

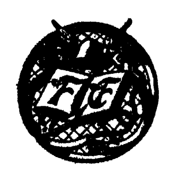
Sammlung chemischer
und chemisch-technischer Vorträge
Begründet von F. B. Ahrens
Herausgegeben von Professor Dr. R. Pummerer-Erlangen
Neue Folge Heft 45

# Chemie und Technik der Vitamine

Von

**Ing. Hans Vogel**
Diplom-Chemiker

Mit 1 Abbildung und 24 Tabellen



1 · 9 · 4 · 0

VERLAG VON FERDINAND ENKE IN STUTTGART

Published and distributed in the Public Interest by Authority of the Alien Property Custodian under License No. A-427

Published by
J. W. Edwards

Lithoprinted by
Edwards Brothers, Inc.
Ann Arbor, Michigan, U.S.A.
1944



Druck der Hoffmannschen Buchdruckerei Felix Krais, Stuttgart

# Vorwort

Vierzig Jahre intensiver Forschung haben ein Gebiet, das anfangs nur sehr wenig Ergebnisse versprach, zu einem der wichtigsten und in seinem derzeitigen Stand schon festgegründeten Grenzgebiet zwischen Chemie und Medizin gemacht. Heute wird wohl niemand mehr zu behaupten wagen, daß die Vitamine zu den unbekannten und unergründbaren Stoffen gehören. Fast ebenso wichtig wie die chemischen Erkenntnisse auf dem Gebiete der Vitamine aber sind die Ergebnisse, die bei dem Studium dieser Körper für die Physiologie, für die Medizin, für die Kenntnis der Enzyme, für die Ernährungswissenschaft und für die Technik erzielt werden konnten.

Die Literatur über die Vitamine hat einen beachtlichen Umfang angenommen. Es erscheint nach dem heutigen Stand der Kenntnisse als ausgeschlossen, in einem kleineren Werk auch nur in den Grundzügen einen Stand der gesamten Vitaminforschung zu geben. Die durch die Forschung berührten verschiedenen Grenzgebiete sind in vorzüglichen Büchern ausführlich behandelt worden. Darstellungen über die Chemie und die Technik der Vitamine, welche alle bisher bekanntgewordenen Vitamine erfassen, sind ebenfalls erschienen, aber durch die schnell fortschreitende Forschung zum Teil überholt. Es soll nun Aufgabe dieses Bandes der „Sammlung" sein, einen ausführlichen Überblick über den Stand der chemischen Forschung auf dem Gebiete der Vitamine zu geben und die Methoden ihrer Darstellung in Laboratorien und Industrie zu besprechen.

Das Buch soll als Einführung in die Chemie der Vitamine dienen. Es soll aber auch dem Techniker die chemischen Unterlagen über ein Gebiet in die Hand geben, das mit zu den schwierigsten der organischen Industrie gehört. Der Verfasser ist selbst seit Jahren als Betriebsleiter in einem Unternehmen beschäftigt, das Vitamin-Präparate herstellt. Er kennt die Schwierigkeiten, die bei der Behandlung dieser zum Teil recht empfindlichen Substanzen auftreten und er kennt das Maß von Erfahrungen, das die synthetische Herstellung der Vitamine erfordert. Dies Buch soll den Technikern und Chemikern, aber auch den Medizinern und Pharmazeuten das Eindringen in die schwierige und schwer übersehbare Materie erleichtern. Wenn das Buch weiterhin dazu beitragen kann, die Ernährung des deutschen Volkes im Sinne des Vierjahresplanes in die

gewünschten Bahnen zu lenken, indem das Interesse für eine zweckmäßige und gesunde Nahrung erweckt wird, dann ist wohl damit seine höchste Aufgabe erfüllt.

Dem Herausgeber der „Sammlung“, Herrn Prof. R. Pummerer, gebührt der aufrichtige Dank des Verfassers für das Interesse an dem Buche, Herrn Dr. Hans Fiesselmann, Erlangen, der Dank für das Mitlesen der Korrekturen. Der Verlag Ferdinand Enke hat sich in bekannter Sorgfalt dem Buche gewidmet. Ihm sei an dieser Stelle für seinen Einsatz gedankt.

Leitmeritz, im Juni 1940 Der Verfasser

# Inhaltsverzeichnis


Seite

Vorwort . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . III

Inhaltsverzeichnis . . . . . . . . . . . . . . . . V

Einleitung . . . . . . . . . . . . . . . . . . 1

A. Fettlösliche Vitamine . . . . . . . . . . . . 7

I. Ungesättigte Alkohole . . . . . . . . . . 7

1. Sterinabkömmlinge (Vitamine D) . . . 7

Allgemeines . . . . . . . . . . . . . . 7

Die Provitamine D . . . . . . . . . . . 10

1. Das Provitamin $D_2$ (Ergosterin) . . . . . . . 10
Vorkommen; Nachweis; Eigenschaften; Derivate; Konstitution; Darstellung . . . . . . . . . . 10

2. Das Provitamin $D_3$ (7-Dehydro-cholesterin) . . . 23
Vorkommen; Nachweis; Eigenschaften; Derivate; Konstitution; Darstellung . . . . . . . . . . 23

3. Das Provitamin $D_4$ (22-Dihydro-ergosterin) . . . 26
Eigenschaften; Darstellung . . . . . . . . 26

4. Weitere Provitamine D . . . . . . . . . . 27
7-Dehydro-sitosterin; 7-Dehydro-stigmasterin . . 27

Die eigentlichen Vitamine D . . . . . . 29

Allgemeines . . . . . . . . . . . . . . 29

1. Das Vitamin $D_2$ . . . . . . . . . . . . . 29
Vorkommen; Zusammensetzung: Konstitution; Entstehung; Lumisterin; Tachysterin; Toxisterin; die Suprasterine; Vitamin $D_2$: Eigenschaften; Derivate; Farbreaktionen; Wirksamkeit und Standard; Darstellung . . . . . . . . . . . . . . . . 38

2. Das Vitamin $D_3$ . . . . . . . . . . . . . 44
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Eigenschaften; Darstellung . . . . . . . . . . 48

3. Die Vitamine $D_4$ bis $D_6$ . . . . . . . . . 49

Technische Darstellung von Vitamin D und Vitamin-D-Präparaten . . . . . 52

1. Lebertran und Lebertranpräparate . . . . . . 52
Lebertran; Vitamin-Konzentrate aus Lebertran; Lebertranpräparate: Emulsionen; andere Präparate aus Lebertran . . . . . . . . . . . . . 52

2. Die Technik der U.-V.-Bestrahlung . . . . . . 57

Seite

Lichtquellen; Wellenlängen; Lichtfilter; Abhaltung des Sauerstoffs; Bestrahlungsdauer; Reinigung und Isolierung der Bestrahlungsprodukte; Bestrahlung provitaminhaltiger Materialien; Patentübersicht . 62

2. Polyenabkömmlinge (Vitamine A) . . . 62

Allgemeines . . . . . . . . . . . . . . 62

Die Provitamine A . . . . . . . . . . 65

1. Carotin . . . . . . . . . . . . . . . 65
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Eigenschaften; $\alpha$-Carotin; $\beta$-Carotin; $\gamma$-Carotin; Mischcarotin; Farbreaktionen . . . . . . . . . . 72

2. Kryptoxanthin und andere natürliche A-Provitamine 72

3. Synthetische Provitamine A . . . . . . . . 76
Vitamin-A-Wirkung und chemische Konstitution . . . . . . . . . . . 77
Darstellung der Provitamine A . . . 80
Technische Darstellung von Roh-Carotin . . . . 80
Krystallisiertes Carotin . . . . . . . . . . 82
1. Aus Brennesselblättern . . . . . . . . . . 82
2. Aus Mohrrüben . . . . . . . . . . . . 82
3. Aus Palmöl . . . . . . . . . . . . . 83
Darstellung von $\alpha$-, $\beta$- und $\gamma$-Carotin; das Jodidverfahren; das Adsorptionsverfahren . . . . . 83
Vitamin A . . . . . . . . . . . . . . 84
Vorkommen; Konstitution; Chemische und physikalische Eigenschaften; Physiologische Wirksamkeit; Nachweis . . . . . . . . . . 84
Vitamin $A_2$ . . . . . . . . . . . . . 95
Darstellung und Synthese des Vitamin A . . . . . . . . . . . . . 95
Darstellung aus Naturstoffen, Synthese . . . 96

II. Phenole der Chromanreihe . . . . . 98

Vitamine E (Tocopherole) . . . . . . . . . 98
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; $\beta$-Tocopherol; Eigenschaften; Biologische Wirkung; Konstitution und biologische Wirkung; Substanzen mit E-Wirkung; Nachweis und Bestimmung . . . . . . . . . 98

Die Darstellung der Tocopherole . . . . . . . . . 113

Technik der Vitamin-E-Gewinnung . . . . . . . . 113
1. Vitamin-E-Präparate; Darstellung der reinen Tocopherole; Synthese der Tocopherole; Darstellung von d, l-$\alpha$-Tocopherol; Darstellung der Komponenten; Synthesen; Synthese von $\beta$-Tocopherol; andere synthetische Stoffe mit E-Wirkung . . . . . . . . . . . 113

Seite

III. Naphthochinonderivate . . . . . . . . . 118
Das Vitamin $K_1$ (antihämorrhagisches Vitamin) . . 118
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Eigenschaften
Vitamin $K_2$ . . . . . . . . . . . . . . . . 118
Konstitution und physiologische Wirkung . . . . . 118
Nachweis und Bestimmung; Darstellung des Vitamin $K_1$; Synthese von Vitamin $K_1$ . . . . . . . . 118

B. Wasserlösliche Vitamine . . . . . . . . . . . 128
I. Ketolactone der Zuckergruppe . . . . . 128
Vitamin C (l-Ascorbinsäure) . . . . . . . 128
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Physikalische Eigenschaften; Chemische Eigenschaften; Biologische Eigenschaften; Ascorbigen; Konstitution und Wirksamkeit; Synthese der l-Ascorbinsäure; Nachweis und Bestimmung . . . . . . . . . . . . . . . 128
Technik der Vitamin-C-Gewinnung . . . . . . . . . 146
Darstellung von krystall. Ascorbinsäure . . . . . . 147
1. Aus grünen Paprikaschoten; 2. aus Hagebutten; 3. aus Zitronen; 4. andere Ausgangssubstanzen . . . . . 147
Synthese der l-Ascorbinsäure . . . . . . . . . . 150
I. 1. Gewinnung von l-Sorbose; 2. Diaceton-sorbose; 3. Diaceton-2-keto-l-gulonsäure; 4. 2-Keto-l-gulonsäure; 5. l-Ascorbinsäure; II. Gewinnung von l-Xylose . . . 150

II. Stickstoffhaltige heterocyclische Verbindungen . . . . . . . . . . . . . . . . 156
a) Vitamine mit Pyrimidinkern . . . . . 156
1. Vitamin $B_1$ (Aneurin) . . . . . . . . 156
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Thiochrom; Eigenschaften; Farbreaktionen; Physiologische Wirkung . . . . . . . . . . . . 156
Vitamin-$B_1$-pyrophosphorsäure (Cocarboxylase) . . 167
Synthese des Aneurins . . . . . . . . . . . 169
Die Methodik der Synthese . . . . . . . . . 172
Die Darstellung des Vitamin $B_1$ . . . . . . . . . 176
Allgemeines; Vitamin-$B_1$-Konzentrate; Gewinnung von Konzentraten mit dem gesamten B-Komplex 176
2. Vitamin $B_2$ (Lactoflavin) und Gelbes Ferment . . . . . . . . . . . . . . 183
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Konstitution und Vitaminwirkung; Eigenschaften; Nachweis des Lactoflavins . . . . . . . . . . . 183
Darstellung von Lactoflavin . . . . . . . . . 198
1. Aus Kuhmilch; 2. aus Hefe . . . . . . . 198
Die Synthese des Lactoflavins . . . . . . . . . . 200
A. Aufbau der Ribose-Komponente . . . . . . 200

Seite

B. 1.2-Dimethyl-4-amino-5-d-l′-ribityl-aminobenzol
C. Kondensation der Komponenten zu Lactoflavin . 204
Das Gelbe Ferment (Flavinenzym) . . . 204
Allgemeines; Konstitution; Synthese; Eigenschaften; Bestimmung . . . . . . . . . . . . 204
Darstellung des Gelben Ferments . . . . . . 209
A. Aus Bierhefe; B. Lactoflavin-phosphorsäure; C. Synthese der Lactoflavin-phosphorsäure . . . 210
b) Vitamine mit Pyridinkern . . . . . . 211
1. Vitamin $B_6$ (Adermin) . . . . . . . . 211
Allgemeines; Vorkommen; Konstitution; Eigenschaften; Physiologische Wirkung; Darstellung; Synthese des Adermins; Nachweis und Bestimmung 211
2. Anti-Pellagravitamin und Codehydrasen . . . . . . . . . . . . . . . . 219
Nicotinsäureamid . . . . . . . . . 219
Allgemeines; Konstitution; Vorkommen; Eigenschaften und Nachweis; Darstellung; Konstitution und biologische Wirkung . . . . . . . 219
Die Codehydrasen . . . . . . . . . . 222

C. Ungenügend definierte Vitamine . . . . . . . 224

1. Hühner-Anti-Dermatitisvitamin (Pantothensäure) . . . . . . . . . . . . . . 224
2. Das Hautvitamin F . . . . . . . . . . 226
3. Die Vitamine $B_3$ und $B_5$ . . . . . . . . . 227
Vorkommen und Wirkung; Eigenschaften; Darstellung
4. Das Vitamin $B_4$ . . . . . . . . . . . . . 229
Vorkommen, Wirksamkeit und Darstellung . . . . . 229
5. Die Anti-Anämiefaktoren . . . . . . . . . 230
6. Das Vitamin H . . . . . . . . . . 233
7. Das Anti-Pneumonievitamin J . . . . . . 235
8. Der Faktor W . . . . . . . . . . . 235
9. Die Lactationsvitamine . . . . . . . . . . 236
0. Der Anti-graue-Haare-Faktor $B_x$ . . . . . 236
.1. Das sog. Permeabilitätsvitamin P . . . . 236
12. Andere Vitamine . . . . . . . . . . . 238
Vitamine in Biologie und Medizin . . . . . . 238
Verzeichnis des buchmäßigen und zusammenfassenden Schrifttums über Vitamine . . . . . . . . . . . . . . . 244
Patentverzeichnis . . . . . . . . . . . . . . 246
Sachregister . . . . . . . . . . . . . . . 264

# Einleitung

Bis gegen das Ende des vorigen Jahrhunderts hielt die Wissenschaft eine Ernährung, die aus Kohlenhydraten, Fett, Eiweiß, Wasser und Salzen besteht, für vollkommen genügend, um den menschlichen und tierischen Organismus in seiner Lebenstätigkeit zu erhalten und normales, gesundes Wachstum zu ermöglichen. Die erste Bresche in diese von den Forschern Liebig, Voit und Rubner aufgestellte klassische Ernährungsphysiologie schlugen die Versuche des deutschen Chemikers Bunge, der in den achtziger Jahren seine Versuchstiere mit solchen reinen Stoffen aufziehen wollte. Es zeigte sich, daß die Tiere trotz Zufuhr von mehr als ausreichenden Mengen dieser Nahrungsmittel, ohne Rücksicht auf die verschiedensten Mischungsverhältnisse, nach Auftreten verschiedener Gesundheitsstörungen eingingen.

W. Stepp gelang es dann 1909, in grundlegenden Versuchen an Tieren nachzuweisen, daß außer den von der klassischen Ernährungslehre geforderten Nahrungsstoffen noch andere Stoffe notwendig sind: die sog. „akzessorischen Nährstoffe". Schon vorher hatte der holländische Arzt Eijkman (1897) gefunden, daß Hühner, die nur mit geschältem Reis gefüttert werden, bald an einer charakteristischen Krankkeit zu leiden beginnen, die durch Zufüttern von ungeschältem Reis sehr schnell zu heilen sei. Damit wurde der Wandel der Ansichten auf dem Ernährungsgebiet vorbereitet. Diese Hühner-Polyneuritis ähnelt in ihrer Form sehr der bei reisessenden Völkern häufig auftretenden Krankheit Beriberi. Es gelang später tatsächlich, durch Zufuhr von Reisschalen auch die menschliche Beriberi zu heilen.

Von früher her wußte man, daß der bei langen Seereisen und ausschließlicher Zwieback- und Pöckelfleischernährung auftretende Skorbut durch Zufuhr von frischen Gemüsen rasch zu heilen war. Es mußten also einmal in den Reisschalen, das andremal in frischen Pflanzen, Stoffe enthalten sein, deren Fehlen Ursache schwerer Schädigungen des menschlichen und tierischen Organismus ist. Sie konnten aber nur in ganz kleinen Mengen in den Pflanzen vorhanden sein, da sie sich hartnäckig der Forschung entzogen. Es waren in erster Linie die Ärzte und Biologen, die sich der Erforschung dieser Stoffe annahmen. Man lernte schnell hintereinander eine ganze Anzahl von Krankheitsformen kennen, deren Ursache

man auf den Mangel solcher akzessorischer Nährstoffe zurückführte. Funk nannte diese Stoffe, die er für Amine hielt, „Vitamine". Die durch ihr Fehlen in der Nahrung hervorgerufenen Krankheiten nannte man „Vitaminmangelkrankheiten" oder „Avitaminosen". In der Folgezeit lernte die Forschung immer mehr solche Stoffe kennen, deren Mangel zu festumrissenen Krankheitserscheinungen führt. Die Namen der Krankheiten, wie Rachitis, Skorbut usw. führten zu Bezeichnungen der Vitamine, die diese Krankheiten verhüten, so z. B. antirachitisches Vitamin, antiskorbutisches Vitamin. Zur Einführung einer einheitlichen Nomenklatur wurde vorgeschlagen, die Vitamine durch Hinzufügen eines großen römischen Buchstabens zu unterscheiden, und man nannte also die Vitamine in der Reihenfolge des Alphabetes Vitamin A, B, C, D usw. In jüngster Zeit bildet man aus dem Krankheitswort für die Vitamine entsprechende Trivialnamen, so nennt man das antiskorbutische Vitamin C „Askorbinsäure", das antineuritische Vitamin $B_1$ „Aneurin" usw. Unterteilungen einzelner Gruppen, die sich im Verlaufe der fortschreitenden Erforschung der Stoffe nötig machten, wurden so durchgeführt, daß man dem römischen Buchstaben rechts unten eine arabische Zahl anfügte, z. B. $B_1$, $B_2$ usw. Von den Vitaminen verdient nur ein kleiner Teil, nämlich die der B-Gruppe, die Bezeichnung „Amine" im chemischen Sinn.

Trotz intensivsten Einsatzes der medizinischen und biologischen Forschung, die besonders von amerikanischer Seite geschah, war man lange in Unkenntnis der chemischen Natur dieser Stoffe. Schuld daran war zum Teil, daß die Vitamine in den untersuchten Pflanzenteilen in sehr kleinen Mengen vorkommen, und daß schon ganz geringe Mengen von den notdürftig gereinigten Stoffen genügten, um die charakteristischen Krankheiten zu heilen. Zu ihrer Bestimmung und Charakterisierung bediente man sich des Tierversuches. Man verwendet meist Ratten, Tauben oder Meerschweinchen. Man kennt zwei Verfahren, das vorbeugende oder prophylaktische Verfahren und das heilende oder kurative Verfahren. Beim prophylaktischen Test wird durch Zusatz eines das Vitamin enthaltenden Extraktes zur Nahrung, die für sich allein eine Avitaminose hervorrufen würde, der Ausbruch der Krankheit verhindert. Beim kurativen Test wird durch Verabfolgung einer Nahrung, die vollkommen frei ist von jeweils bestimmten Bestandteilen, die Krankheit hervorgerufen und dann therapeutisch die Wirkung einer zugesetzten Substanz geprüft. Dabei lassen sich durch Variationen der Menge bestimmte quantitative Ergebnisse erzielen. Eine solche bestimmte Menge eines Vitamins oder Wirkstoffes wird als internationale

Einheit festgesetzt, wobei die Diät, das Versuchstier und der Erfolg der Heilung genau genormt sind. Zur Erzielung sicherer Ergebnisse sind langwierige und kostspielige Serienversuche mit Gruppen von Versuchstieren nötig.

Man kam bei solchen Versuchen und bei fortschreitender Reindarstellung der Vitamine zu physiologischen Wirkungsmengen von wenigen $\gamma$ ($1\ \gamma = {}^1/_{1\,000\,000}$ g).

Die sehr mühsamen Tierversuche wurden stetig verbessert und damit war im Verlaufe einiger weniger Jahre der Weg gegeben, die Vitamine aus dem geeignetsten Material in immer reinerer Form darzustellen. Damit war auch die Möglichkeit gegeben, sie als chemische Körper zu bestimmen und ihre Konstitution zu erforschen und diese wichtigen und geheimnisvollen Naturstoffe künstlich (synthetisch) herzustellen.

Nach 25 Jahren bahnbrechender Forschungsarbeit auf dem Steringebiet gelang es Windaus im Jahre 1925, aus Ergosterin durch Ultraviolettbestrahlung einen Körper zu gewinnen, der alle Eigenschaften des antirachitischen Vitamins zeigte. Mit dieser Großtat chemischer Forschung setzte die chemische Erforschung der Vitamine ein. Die Reindarstellung einiger Vitamine war bei den verfeinerten Methoden möglich geworden. Im Jahre 1926 wurde das Vitamin $B_1$ erstmalig ganz rein erhalten, 1928 das Vitamin C, im Jahre 1931 das Vitamin $D_2$, im Jahre 1933 die Vitamine $B_2$ und A und in den Jahren 1936—37 die Vitamine $D_3$ und E, bis dann in neuester Zeit die Vitamine $B_6$, das Adermin und das Antipellagravitamin rein hergestellt werden konnten. Nachdem man gelernt hatte, die Vitamine in reinster Form darzustellen, dauerte es nicht lange, bis man ihre Konstitution erkannte. In den Jahren 1933 (Konstitution der Vitamine A und C) bis 1939 konnte man den chemischen Feinbau aller isolierten Vitamine aufklären. Es ist dies eine unerhörte Großtat des menschlichen Geistes, deren segensreiche Auswirkung für die Ernährung und den Gesundheitszustand der Menschheit schon heute mächtig fühlbar ist. Stoffe, von deren Existenz man vor 50 Jahren überhaupt keine Ahnung hatte, tauchten plötzlich in den Gesichtskreis der Forschung; jahrelang mühte man sich, hinter das Geheimnis dieser scheinbar unzugänglichen Körper zu kommen, unendliche Mühe und unendliche Kosten wurden aufgewendet, bis man diese in verschwindend kleinen Mengen wirkenden, selbst auch nur in winzigsten Mengen in den Pflanzen vorhandenen Stoffe, als reine Substanzen in Händen hielt — und dann vergingen kaum 10 Jahre, und man kannte diese Körper nicht nur in ihrem chemischen Aufbau, sondern man konnte sie auch schon künstlich herstellen. Hier

ist wiederum auch dem Erfinder der organischen Mikroanalyse, Fritz Pregl, gebührender Dank zu zollen, ohne dessen Methode dieser Triumph biochemischer Forschung nicht denkbar wäre. Im Jahre 1933 gelang die erste Totalsynthese des Vitamins C, zwei Jahre später konnte $B_2$ künstlich hergestellt werden, wieder ein Jahr später, 1936, gelang die Synthese des Vitamins $B_1$, im Jahre 1937 wurde Vitamin A synthetisiert, und heute kennt man die Synthese weiterer Vitamine, E, des Antipellagravitamins, der Vitamine der Gruppe D.

Gleichlaufend mit den Fortschritten präparativer und chemischer Art liefen die Ergebnisse der physiologischen Bearbeitung der Vitamine. Die Testverfahren wurden verfeinert und ausgebaut, das Studium der Avitaminosen und ihrer Heilungsmöglichkeiten erweitert. Gleichzeitig gelang es bei einer ganzen Reihe von Vitaminen, die Wirkungsweise im Organismus wenigstens in den Grundzügen aufzudecken. Man stieß auf enge Beziehungen zwischen Vitaminen und Hormonen, denn es gelang der Nachweis, daß manche Vitamine in manchen Tierarten die Rolle eines Hormons spielen, da diese Wirkstoffe dort im Körper aufgebaut werden. Kuhn entdeckte die merkwürdige und aufschlußreiche Beziehung des Vitamins $B_2$ zum gelben Ferment, indem er fand, daß das Vitamin $B_2$ durch Anlagerung seines Phosphorsäureesters an ein spezifisches Protein wichtige Fermentfunktionen im Organismus zu erfüllen hat. Die schon früher geprägte Bezeichnung „Lebensstoffe“ für die Vitamine gewann mit fortschreitender Erkenntnis ihrer Aufgaben im Organismus immer mehr an Berechtigung. Heute wissen wir, daß kein Vorgang der lebendigen Substanz ohne die Beteiligung gewisser „Lebensstoffe“ geschieht, und hier spielen die Vitamine eine grundlegende Rolle. Trotz der ungeheuren Arbeit, die hier geleistet wurde, bleiben jedoch noch sehr viele Fragen offen und dem Forscher steht ein weites und ungemein interessantes Gebiet offen.

Die chemische Durchforschung der Vitamine gestattete es, wenigstens bei einigen Vitaminen von den Tierversuchen unabhängig zu werden. Gewisse Farbreaktionen, Fluoreszenzerscheinungen, Absorptionen im sichtbaren und ultravioletten Teil des Spektrums und allgemeine physikalische Konstanten erlauben eine gewisse Erleichterung beim Nachweis und bei der Isolierung der Vitamine, soweit sie genügend erforscht sind. Bei der Reindarstellung bedient man sich verbesserter Fällungsreaktionen und ganz besonders der chromatographischen Adsorption, die sich zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel der modernen präparativen Chemie entwickelt hat. Sie gestattet eine Auswählung bis in feinste Einzelheiten der Konstitution. Ihr kommt heute auch schon

eine immer steigende Bedeutung bei der technischen Darstellung der Vitamine zu.

Durch Kenntnis der besten Quellen für die einzelnen Vitamine und ihre Ausnützung, aber auch durch die chemische Synthese und ihre technische Auswertung ist man heute in der Lage, alle Vitamine, besonders aber die wichtigsten. in genügender Reinheit und Menge der Menschheit zur Verfügung zu stellen und diese „Lebensstoffe“ in des Wortes wahrster Bedeutung in den Dienst der Heilkunde zu stellen. Eine fast unübersehbare Literatur und fast 900 Patente aller Kulturstaaten geben Zeugnis von der riesigen Arbeit, die der Mensch in wenigen Jahrzehnten dieser Aufgabe gewidmet hat.

Obgleich die Vitamine, physiologisch gesehen, eine einheitliche Gruppe bilden, stößt ihre Definierung im rein chemischen Sinne auf Schwierigkeiten. Man findet unter ihnen Körper aus den verschiedensten organisch-chemischen Stoffklassen: Kohlenhydrate, Sterine, Purine usw., so daß eine einheitliche Zusammenfassung innerhalb einer bestimmten Stoffklasse chemisch unmöglich ist. Man hat deshalb frühzeitig eine Unterteilung gewählt, die auf die Löslichkeit in Wasser oder in Fettlösungsmittel Bezug nimmt. Man kennt also wasserlösliche Vitamine und fettlösliche. Zu ersteren gehören die Vitamine B mit allen Unterabteilungen, C, H, das Antipellagravitamin, der Filtratfaktor, die Antianämiefaktoren, das Vitamin J und die Vitamine L. Zu den fettlöslichen Vitaminen zählt man die Vitamine A, D, E, F, sowie das Vitamin K. Diese Einteilung ist natürlich ohne jede Verbindlichkeit für die Zugehörigkeit der einzelnen Vitamine zu bestimmten Stoffklassen. Es sind auch unter den wasserlöslichen Vitaminen solche der verschiedensten Konstitution, dasselbe gilt für die fettlöslichen, wenn auch hier eine gewisse Ähnlichkeit des Aufbaues nicht verkannt werden darf.

Die andere, von McCollum eingeführte alphabetische Bezeichnung der Vitamine ist zu willkürlich, um auch nur als annähernde Grundlage einer Einteilung dienen zu können. Hier soll erstmalig eine Einteilung nach Stoffklassen durchgeführt werden. Mit der Erforschung weiterer, bisher in ihrer Konstitution noch nicht bekannter Vitamine wird sich diese Einteilung sicher als die beste erweisen. Eine Parallele hierzu bietet die Einteilung der Alkaloide, die ebenfalls nach ihren Bausteinen in Gruppen unterteilt sind.

Tatsächlich hat die genauere chemische Erforschung der einzelnen Vitamine gezeigt, daß sich die physiologische Wirkung nicht auf einen einzigen, genau umrissenen chemischen Körper erstreckt, sondern daß oft eine ganze Anzahl chemisch nahe verwandter Stoffe die gleiche oder

eine ähnliche Wirkung im Organismus ausüben können, wobei aber oft quantitative Unterschiede zu bemerken sind. Die physiologische Wirkung ist an eine ganz bestimmte Gruppierung im Molekül gebunden und sie bleibt bestehen, wenn im Molekül gewisse, nicht tiefergehende Veränderungen stattfinden. Die aktive Gruppierung darf allerdings dabei nicht verändert werden. Die Chemie kennt eine ganze Anzahl solcher synthetischen Körper. Es gibt aber auch physiologisch unwirksame Stoffe, die im Organismus durch besondere Reaktionen in physiologisch aktive, echte Vitamine umgewandelt werden.

So wird z. B. der Polyenfarbstoff Karotin in der Leber in das Vitamin A umgewandelt. Solche Stoffe nennt man Provitamine. Diese Bezeichnung ist nicht ganz richtig, da streng genommen vielleicht mehrere oder alle als Vitamine bezeichneten Stoffe erst durch gewisse Umlagerungen oder Bindungen an andere Substanzen im Organismus „aktiv“ werden. Ein Beispiel hierfür ist das Vitamin $B_2$, das wahrscheinlich als solches im Körper überhaupt nicht befähigt ist, eine physiologisch wichtige Rolle zu spielen, sondern erst durch die Bindung an Phosphorsäure und Eiweiß zum physiologisch aktiven Stoff wird. Auch einige andere Vitamine sind in der Pflanze an andere Moleküle gebunden und werden erst bei der Isolierung frei. Es ist möglich, daß sie auch im Organismus wieder an Eiweiß oder andere Stoffe gebunden werden und erst dann ihre volle Wirksamkeit entfalten können. Die Bindung an Eiweiß scheint für die Wirksamkeit der Vitamine in der Zelle von besonderer Wichtigkeit zu sein, und vielleicht stellt sich in Zukunft noch manches Enzym oder Hormon als irgendwie „körpereigen“-gemachtes „Vitamin“ dar. Zu einigen dieser Fragen wird am Schluß dieses Buches im Abschnitt „Die Vitamine in Biologie und Medizin“ noch Stellung genommen.

# A. Fettlösliche Vitamine

## I. Ungesättigte Alkohole

### 1. Sterinabkömmlinge[1]) (Vitamine D)

Allgemeines

Im Jahre 1906 äußerte F. G. Hopkins[2]) erstmalig die Vermutung, daß die Ursache der Rachitis in der Ernährung zu suchen sei. Er glaubte, anschließend an die Versuche anderer Forscher, daß in der Nahrung der Rachitiskranken einer jener Lebensstoffe fehlen müsse, die anderen Orts die Beriberi, den Skorbut usw. verhindern. Die Rachitis tritt bei Menschen, besonders bei Kindern, und bei Tieren auf. Sie zeigt sich in einer Störung des Längenwachstums der Knochen. Verkrümmungen der Wirbelsäule, der oberen und unteren Extremitäten und des Brustkorbes sind die sichtbaren Erscheinungen. Bei Kindern treten auffällige Veränderungen am Schädel auf; der Hinterkopf wird weich und läßt sich wie Pergamentpapier eindrücken. Physiologisch macht sich eine Störung im Calcium-Phosphat-Stoffwechsel bemerkbar: Im Blut tritt eine Verarmung an Phosphaten ein, während der Calciumgehalt ungefähr gleich bleibt. Im rachitischen Knochen überwiegt die Knorpelsubstanz gegenüber der Knochensubstanz. Eine andere, in gewissen Stadien der Rachitis auftretende Krankheitserscheinung ist die rachitogene Spasmophilie (Tetanie). Sie zeigt sich durch Neigung zu schweren Krampfanfällen. Im Gegensatz zur Rachitis ist bei der Tetanie der Calciumgehalt des Blutes herabgesetzt.

Die Richtigkeit der Auffassung von Hopkins konnte später von Mellanby durch aufschlußreiche Tierexperimente bestätigt werden. Es gelang, die Hühnerrachitis durch Zufüttern von Lebertran zu heilen. Im Lebertran mußte daher eine Substanz enthalten sein, welche die Rachitis zu heilen vermag. Man glaubte, daß diese Eigenschaft dem Vita-

---

[1]) Eine zusammenfassende Darstellung aller Verbindungen der Steringruppe, zu der nicht nur Vitamine, sondern auch wichtige Sexualhormone, ferner die Herzgifte der Digitalisgruppe u. a. gehören, verdanken wir Lettré u. Inhofen, diese Sammlung, Neue Folge, Nr. 29 [1936].

[2]) Analyst **31**, 395 (1906).

min A, an dem Lebertran reich ist, zukäme. Die Vervollkommnung der Tierversuche gestattete die Analyse der Nahrungsmittel auf ihren Gehalt an antirachitischem Vitamin, und man fand, daß es zu den fettlöslichen Vitaminen gehörte, sich aber von dem Vitamin A durch Eigenschaften und Vorkommen deutlich unterschied.

In besonders großen Konzentrationen findet sich das antirachitische Vitamin in den Leberölen der Knochenfische wie Dorsch, Thunfisch und Heilbutt. In anderen Materialien, besonders in pflanzlichen, findet sich ungemein wenig Vitamin D. Beim Studium der antirachitischen Wirkung von Butter, die verhältnismäßig reich an Vitamin A ist, fand man unterschiedliche Eigenschaften. Während also gewisse, an Vitamin A reiche Materialien überhaupt keine antirachitische Wirkung zeigten, erwies sich durch Durchlüftung von Vitamin A befreiter Lebertran als stark antirachitisch wirksam.

Die chemische Erforschung des Vitamins D stieß auf große Schwierigkeiten. Hingegen erwies sich ein anderer Weg als der glücklichere. Raczinski machte schon im Jahre 1912 auf einen Zusammenhang zwischen Rachitis und Mangel an Sonnenlicht aufmerksam. 1919 konnte dann Huldschinsky[3]) an Hand eines umfangreichen klinischen Materials die hervorragende Eignung mit ultraviolettem Licht bestrahlter Nahrungsmittel in der Rachitistherapie nachweisen. Heß[4]) und Steenbock fanden darauf, daß sich die Bestrahlung der Nahrungsmittel durch direkte Bestrahlung der Patienten ersetzen ließ. Es mußte demnach sowohl in der Nahrung als auch in der Haut ein Stoff vorhanden sein, der unter der Einwirkung ultravioletten Lichts zu einem Vitamin aktiviert wurde. Man gab diesem Stoff die Bezeichnung „Provitamin D“.

Heß und Mitarbeiter[5]) sowie Steenbock[6]) konnten nachweisen, daß durch Bestrahlung von Sterinen dieselben antirachitisch wirksam gemacht werden konnten. Bei der weiteren Forschung wurde es klar, daß es ein den natürlichen Sterinen, hauptsächlich dem Cholesterin beigemengter Begleiter dieser Körper sein müsse. Tatsächlich erkannten 1926 Pohl[7]), Windaus und Hess[8]), Rosenheim und Web-

[3]) Dtsch. med. Wschr. **45,** 712 (1919).

[4]) J. biol. Chem. **50,** 77 (1922).

[5]) A. F. Heß, M. Weinstock und F. D. Helman, J. biol. Chem. **63,** 305 (1925).

[6]) H. Steenbock und A. Black, J. biol. Chem. **61,** 405 (1925); **64,** 263 (1925).

[7]) Nachr. Ges. Wiss., Göttingen **1926,** 185.

[8]) Proceed. Soc. exp. Biol. Med. **24,** 171, 461 (1927).

ster[9]), daß es sich um das den pflanzlichen und tierischen Sterinen stets beigemengte Sterin Ergosterin handle.

Obgleich das Ausgangsprodukt leicht zugänglich war, bereitete die Aufklärung der Ergosterinbestrahlung und die Reindarstellung des Vitamins D große Schwierigkeiten. Windaus[10]) schloß aus indirekten Versuchen, daß das bestrahlte Ergosterin aus 5 bis 6 isomeren Stoffen bestand. Durch Langbestrahlung erhielt er 1930 die krystallisierten Suprasterine, die jedoch physiologisch unwirksam waren[11]). Die ersten krystallisierten und physiologisch wirksamen Bestrahlungsprodukte erhielten Bourdillon, Webster und Mitarbeiter[12]). Sie erkannten es aber als Gemisch verschiedener Stoffe, von denen einer das Vitamin war. Windaus[13]) konnte ein reineres Krystallisat isolieren, erkannte es aber bald als Molekülverbindung des Vitamins mit einem anderen Bestrahlungsprodukt. Er nannte diese Verbindung Vitamin $D_1$. Bald nachher gelang ihm und Linsert[14]) die Darstellung des alleinigen Trägers der antirachitischen Wirksamkeit in krystallisiertem Zustande, des Vitamins $D_2$. In England wird dieses Vitamin „Calciferol" genannt.

Man fand später, daß auch andere „Provitamine" bei der Bestrahlung entsprechende D-Vitamine geben. Ergosterin, das als Begleiter des Cholesterins, aber auch als fast einziges Sterin besonders in Speisepilzen und Hefen vorkommt, auch in pflanzlichen Materialien (Baumwollsaatöl, Skopoliawurzel, Mutterkorn) sich vorfindet, gibt bei der Bestrahlung nur das Vitamin $D_2$. Ein anderes Provitamin, das 7-Dehydro-cholesterin, das in Schweineschwarte, Wellhornschnecke und Enteneiern nachgewiesen wurde, aber das auch synthetisch durch Dehydrieren des Cholesterins gewonnen werden kann, gibt bei der Bestrahlung das Vitamin $D_3$. Während aber das Vitamin $D_2$ bis heute in der Natur nicht aufgefunden werden konnte, ist das Vitamin $D_3$ identisch mit dem in Leberölen vorkommenden natürlichen Vitamin D. Es wurde aus Leberölen erstmalig von Brockmann, Simons

9) Biochem. Journ. **20**, 537 (1926); **21**, 127 (1927).

10) Nachr. Ges. Wiss., Göttingen **1930**, 36.

11) A. Windaus, Gaede, Köser und Stein. Annal. **483**, 17 (1930).

12) Askew, Angus, Bourdillon, Webster. Proceed. Roy. Soc. London (B) **107**, 76 (1930).

13) Windaus, Deppe und Mitarb. Annal. **489**, 252 (1931); Windaus, Dithmar und Fernholz. Annal. **493**, 259 (1932).

14) Windaus, Linsert, Weidlich und Mitarb. Annal. **492**, 226 (1932).

und Drummond[15]) in reiner, krystallisierter Form isoliert. Es besteht die Möglichkeit, daß mehrere Vitamine D in der Natur vorkommen. So zeigt zum Beispiel das antirachitisch wirkende Vitamin der Winterbutter gegen Alkalien eine größere Empfindlichkeit als das Vitamin aus Leberölen.

Ein weiteres, in der Natur nicht vorkommendes Vitamin ist das durch Bestrahlen von synthetischem 22-Dihydro-ergosterin erhaltene Vitamin $D_4$. Auch aus dem ebenfalls nur synthetisch zugänglichen 7-Dehydro-sistosterin konnte durch Bestrahlung ein antirachitisches künstliches Vitamin erhalten werden.

Interessant ist die Beobachtung, daß Ergosterin durch Behandlung mit Nitrit, Cholesterin und Cholesterylen und viele ihrer Derivate durch Erhitzen mit anorganischen Säuren und Salzen in antirachitisch wirksame Produkte verwandelt werden können[16]).

## Die Provitamine D

Die Vorstufen der D-Vitamine gehen erst im Körper in das eigentliche Vitamin über. Dieser Übergang vollzieht sich im allgemeinen in der Haut unter der Einwirkung von ultraviolettem Sonnenlicht (250—300 m$\mu$), wobei in chemischer Hinsicht eine Umformung des Moleküls, jedoch kein Abbau stattfindet. Provitamine und Vitamine sind daher Isomere. Sie unterscheiden sich durch ihre rein chemischen, aber auch durch ihre spektroskopischen Eigenschaften und ihre physiologische Wirkung.

### 1. Das Provitamin $D_2$: Ergosterin

Vorkommen: Im unverseifbaren Anteil aller pflanzlichen und tierischen Fette findet sich eine Reihe chemisch nahe verwandter, polyzyklischer, hydroaromatischer Alkohole, die nach einem Vorschlag von Abderhalden den Namen Sterine erhalten haben. Man teilt sie nach ihrer Herkunft ein in:

1. Zoosterine oder Sterine der Tiere (Cholesterin, Koprosterin, Lanosterin, Agnosterin, Spongosterin, Oxycholesterin, Dihydrochole-

---

[15]) H. Brockmann, Z. physiol. Chem. **241**, 104 (1936); **245**, 96 (1937); **249**, 176 (1937).

G. D. Haslewood und J. C. Drummond. Chem. a. Ind. **55**, 598 (1936); E. J. H. Simons und T. F. Zucker, J. amer. chem. Soc. **58**, 2655 (1936).

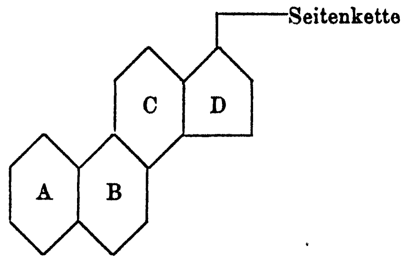
[16]) Eck, Thomas und Yoder, J. biol. Chem. **117**, 655; **119**, 621 (1937).

sterin, Metacholesterin, Klionasterin, Bombicesterin, Stellasterin, Asteriasterin).

2. Phytosterine oder Sterine der höheren Pflanzen (Phanerogamen) (Sitosterin, Stigmasterin, Brassicasterin, Dihydrositosterin).

3. Mykosterine oder Sterine der Kryptogamen, besonders der Pilze und Hefen (Ergosterin, Fungisterin, Zymosterin, Ascosterin, Dihydroergosterin, Neosterin, Fäkosterin).

Die einzelnen Sterine sind untereinander ähnliche, gut krystallisierende, in Wasser unlösliche, aber in Fettlösungsmitteln gut lösliche, farblose Substanzen. Sie sind optisch aktiv. Sie sind alle aus 26 bis 30 Kohlenstoffatomen aufgebaut. Die häufigsten Sterine sind ein- oder mehrfach ungesättigte, sekundäre, einwertige Alkohole mit einem Skelett von vier karbozyklischen Ringen, dem eine längere, verzweigte Seitenkette angegliedert ist.




Die freie Hydroxylgruppe verleiht den Sterinen die Fähigkeit zur Bildung von Molekülverbindungen, von denen besonders jene mit dem Saponin Digitonin sehr schwer löslich ist und zum Nachweis der Sterine viel benützt wird (Digitonide). In neuerer Zeit ist der Nachweis erbracht worden, daß den ungesättigten Sterinen fast immer eine kleine Menge der entsprechenden Dihydroverbindung beigemengt ist in Form einer Molekülverbindung, die sich nur schwer trennen läßt. Viele Angaben über physikalische Eigenschaften der natürlichen Sterine beziehen sich auf solche Gemische[17]).

Es wurde eine große Anzahl von Sterinen beschrieben und mit den verschiedensten Namen belegt. Es handelt sich aber vielfach sicherlich nur um Gemische der genauer bekannten Sterine. Wie gesagt wurde, sind die Molekülverbindungen der Sterine oft sehr schwer zu zerlegen, und selbst das Krystallwasser wird oft nur sehr schwer abgegeben, was

---

[17]) Anderson, Nabenhauer und Shriner, J. biol. Chem. **71**, 389 (1927); Bonstedt, Ztschr. physiol. Chem. **176**, 269 (1928); Schönheimer, Behring, Hummel und Schindel, Ztschr. physiol. Chem. **192**, 73 (1930).

zu unrichtigen Analysenzahlen für die untersuchten Sterine Anlaß gibt. Eine sichere Gewähr für die Richtigkeit der Bruttoformel geben nur die Analysen der krystallisierten Ester. Dies gilt für alle, besonders in der älteren Literatur beschriebenen Sterine.

Die hauptsächlichste Quelle der Mykosterine sind Mutterkorn und Hefe, bzw. Hefefett. Sie ähneln alle sehr dem wichtigsten Mykosterin, dem Ergosterin, und unterscheiden sich von ihm besonders durch ihre größere Löslichkeit und ihr optisches Drehungsvermögen. Dihydroergosterin begleitet immer das Ergosterin in einer Menge von 2 bis 5%.

Ergosterin findet sich in größeren Mengen im Mutterkorn und in höheren Pilzen, besonders aber im Hefefett, das heute die fast ausschließliche Quelle seiner Herstellung ist. Es begleitet außerdem fast immer das Zoosterin Cholesterin in einer Menge von 0,03%, ist also im Gegensatz zu anderen Sterinen sowohl im Pflanzenreich als auch im Tierreich vorhanden. Es ist als resorbiertes Sterin im Hühnerei, in der roten Wegschnecke, im Regenwurm und in anderen Tieren vorhanden[18]. Es kommt auch im Baumwollsaatöl und in der Skopoliawurzel vor.

Nachweis: Zum qualitativen Nachweis des Ergosterins kennt man eine Reihe von Farbreaktionen, von denen besonders die sog. umgekehrte Salkowskische Probe recht spezifisch ist. Zu ihrer Ausführung wird das Sterin in Chloroform gelöst und mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Dabei färbt sich die Säureschicht tiefrot-schmutzigrot, während die Chloroformschicht farblos bleibt. Beim Eindampfen färbt sich die Chloroformlösung violett. Beim Zusatz von 0,3% Selensäure zur Schwefelsäure entsteht eine rote bis orangegelbe Färbung. Cholesterin und Sitosterin geben unter denselben Bedingungen eine rote Chloroformschicht und eine grün fluoreszierende Schwefelsäureschicht. — Unterschichtet man eine Eisessiglösung von Ergosterin mit konz. Schwefelsäure, so zeigt die Eisessiglösung grüne Fluoreszenz. — Mit Antimontrichlorid in Chloroform tritt Rotfärbung ein. — Beim Schmelzen eines Ergosterinkrystalls mit Chloralhydrat auf dem Wasserbad entsteht eine karminrote Färbung, die über Grün nach Blau umschlägt. — Gibt man zu einer Chloroformlösung das gleiche Volumen einer Lösung von 25 g Merkuriacetat in 100 ccm konz. Salpetersäure so wird die Chloroformschicht erst hellrot, dann blau. Die Empfindlichkeit dieser Reaktion beträgt 0,1 mg. — Zu einer Lösung von Ergosterin in Chloroform gibt man eine Lösung von 9 Teilen Trichloressigsäure und 1 Teil Wasser.

[18]) A. Windaus, a. a. O.

Es tritt Rotfärbung auf, die in Hellblau übergeht. Empfindlichkeit dieser Reaktion nach Rosenheim: 0,01 mg. — Unterschichtet man eine Eisessiglösung von Ergosterin mit einer Lösung von Brom in Chloroform, so tritt an der Berührungsstelle ein grüner Ring auf. — Eine nur für Ergosterin und seine Umwandlungsprodukte spezifische Reaktion beschreibt Tortelli-Jaffé: Zu einer Lösung von Ergosterin in 10 ccm Chloroform gibt man 5 ccm reinstes Olivenöl, 1 ccm Eisessig und 2,5 ccm 10proz. Bromlösung in Chloroform. Nach dem Umschütteln tritt eine Grünfärbung auf. Man beobachtet nach 10 Minuten. Empfindlichkeit 0,5 bis 1 mg.

Charakteristisch sind auch die Absorptionsbanden im Ultraviolett bei 260, 269, 281 und 293 m$\mu$. Das Maximum liegt bei 281 m$\mu$. Die Lage der Absorptionsbanden ist vom Lösungsmittel unabhängig. Zur quantitativen Ergosterinbestimmung benutzt man in erster Linie die Intensität der Absorptionsbanden[19]). Zur gewichtsanalytischen Bestimmung ist am geeignetsten Fällung mit Digitonin und Wägung des Digitonids. Die Farbreaktionen lassen sich bei Vorliegen kleiner Mengen als kolorimetrische Methoden auswerten.

Eigenschaften: Ergosterin besitzt nach Windaus und Lüttringhaus[20]) die Bruttoformel $C_{28}H_{43}OH$. Es krystallisiert aus Alkohol in glänzenden, schmalen Blättchen mit 1 Mol Krystallwasser, das sehr schwer abgegeben wird. Aus Essigester und Äther erhält man es krystallwasserfrei in hygroskopischen Nadeln. Ergosterin ist in Wasser unlöslich. In kaltem Methanol und in fetten Ölen ist es schwer löslich. Es löst sich in 525 Teilen kalten und 32 Teilen siedendem Chloroform, in 50 Teilen kaltem und 28 Teilen siedendem Äther. Es schmilzt bei 163°. Die wasserhaltigen Krystalle schmelzen zwischen 166—183°. $[\alpha]_D^0$ = —132° (2proz. Lösung in Chloroform); —94,0° (Äther); —125,0° (Benzol).

Im Hochvakuum von 0,4 mm ist Ergosterin unzersetzt destillierbar. Es ist gegen Luft besonders im Licht sehr empfindlich und verwandelt sich in ein gelbgrünes, unangenehm riechendes Pulver. Selbst im Vakuum destilliertes Ergosterin ist sehr zersetzlich, hält sich aber sehr gut, wenn es dem Cholesterin in kleinen Mengen beigemischt ist. Es bildet dabei beständige Mischkrystalle.

Starke Oxydationsmittel, wie Halogene, Kaliumpermanganat usw. zerstören das Ergosterin. Mineralsäuren bewirken eine Isomerisierung.

---

[19]) R. Pohl, Naturwiss., **1927**, 433; A. Smakula, Nachr. Ges. Wiss., Göttingen **1928**, 49.

[20]) Nachr. Ges. Wiss., Göttingen **1932**, 4.

Durch Merkurisalze wird es zu Dehydroergosterin dehydriert. Dehydrierung mit Selen führt zu einem Kohlenwasserstoff, der von dem aus Cholesterin erhaltenen verschieden ist[21]). Eine Synthese des Ergosterins konnte bis heute noch nicht durchgeführt werden.

Das Ergosterin gibt eine Reihe von Derivaten, welche sich zur Isolierung und Bestimmung eignen:

Ergosterylacetat: $C_{28}H_{43}OCOCH_3$. Krystalle. Schmp. 173°.

Ergosterylbenzoat: $C_{28}H_{43}OCOC_6H_5$. In kaltem Alkohol schwer lösliche Krystalle. Leicht löslich in Essigester und Äther. Schmp. 168°. $[\alpha]_D^{18} = -68°$.

Ergosterylpalmitat: $C_{28}H_{43}OCOC_{15}H_{31}$. In kaltem Alkohol und Essigester schwer lösliche Blättchen. Schmp. 107—108° $[\alpha]_D^{18} = -51°$. Kommt nach A. E. Oxford und H. Raistrick[22]) in einigen Pilzarten natürlich vor.

Ergosterylallophanat: $C_{28}H_{43}OCONHCONH_2$. In den meisten organischen Lösungsmitteln, außer in Pyridin, sehr schwer lösliche Nadeln. Schmp. 250°.

Ergosterinperoxyd: Entsteht durch Photooxydation von Ergosterin in Gegenwart von Sensibilisatoren. Große Prismen aus Azeton oder Äther, schwer löslich in Petroläther. Zersetzt sich oberhalb 185°. $[\alpha]_D^{18} = -35{,}5°$, in Chloroform.

Das als steter Begleiter des Ergosterins in Hefe und im Mutterkorn vorkommende Dihydro-ergosterin[23]) krystallisiert in Blättchen vom Schmp. 174°. $[\alpha]_D^{14} = -20{,}1°$ (2proz. Lösung in Chloroform). Es hat die Bruttoformel $C_{28}H_{45}OH$. Die zwei Doppelbindungen reagieren mit Halogenen. Es wird synthetisch durch Reduktion von Ergosterin mit Natrium und Propylalkohol, oder katalytisch mit Wasserstoff erhalten. Zur Abtrennung vom Ergosterin kann man letzteres durch Ultraviolettbestrahlung in mit Digitonin nicht fällbare Verbindungen überführen und fällt das Dihydroergosterin dann mit Digitonin. Auch kann man das Ergosterin an Maleinsäureanhydrid addieren, das mit dem Dihydroergosterin nicht reagiert. Die Reaktionen nach Rosenheim und nach Tortelli-Jaffé fallen beim Dihydroergosterin negativ aus. Bei der Reaktion nach Salkowski ist die Schwefelsäureschicht gelb und zeigt grüne Fluoreszenz.

---

[21]) Ružička und Mitarb., Helv. chim. Acta **16**, 812 (1933).

[22]) Biochem. Journ. **27**, 1176 (1933).

[23]) A. Windaus und Lüttringhaus, Annal. **481**, 119 (1930).

Konstitution: Die chemische Konstitutionsformel des Ergosterins wurde nach einer Reihe von Jahren abschliessend genau erkannt[24]):

Durch ältere Arbeiten waren eine alkoholische Hydroxylgruppe und drei Doppelbindungen im Molekül nachgewiesen. Der sekundäre Alkohol läßt sich durch Oxydation in das entsprechende Keton überführen. Auf Grund der analytischen Zusammensetzung muß Ergosterin noch vier Ringe enthalten. Die Aufklärung des Ringgerüstes gelang C. K. Chuang[25]). Er stellte durch vollständige Hydrierung den entsprechenden Kohlenwasserstoff Ergostan dar und unterwarf diesen Kohlenwasserstoff der energischen Oxydation mit Chromsäure, analog der Reaktion, bei welcher Windaus[26]) vom Cholestan ausgehend unter Verlust der Isopropylgruppe zur Allo-cholansäure gekommen war ($C_{24}H_{40}O_2$). Chuang erhielt eine um 1 C-Atom niedrigere Säure $C_{23}H_{38}O_2$. Sie erwies sich als identisch mit der durch Grignard-Abbau von Allocholansäure erhaltenen Nor-allocholansäure. Damit war der längst vermutete Zusammenhang des Ergosterins mit den Gallensäuren und dem Cholesterin sichergestellt, wobei gleichzeitig bewiesen wurde, daß das eine C-Atom, welches Ergosterin mehr enthält als Cholesterin, in dem aboxydierten Teil der Seitenkette gestanden haben muß.

24) Windaus und Mitarb., Annal. **500**, 270 (1933); **510**, 248 (1934).
25) Annal. **500**, 270 (1933).
26) A. Windaus und K. Neukirchen, Ber. **52**, 1915 (1919).

Ergostan

Oxydation →

Nor-allo-cholansäure

Der **A u f b a u** d e s **R i n g s y s t e m s** kann auch durch D e - h y d r i e r u n g m i t S e l e n bewiesen werden, w o b e i $\gamma$ - M e t h y l - c y c l o p e n t e n o - p h e n a n t h r e n entsteht[27]).

Daß von den d r e i D o p p e l b i n d u n g e n , die alle durch katalytische Hydrierung oder durch Anlagerung von Brom oder Sauerstoff (mit Benzopersäure) nachweisbar sind, eine in der Seitenkette liegt, er-

[27]) R u ž i č k a , Journ. chem. Soc. London **1934,** 124.

gibt sich aus den Versuchen von F. Reindel[28]) und von A. Guiteras[29]). Ergosterin gibt bei der Oxydation mit Ozon den flüchtigen Aldehyd $C_6H_{12}O_2$, der sich als Methyl-isopropyl-acetaldehyd erwies. Er kann nur aus der Seitenkette stammen. Es muß also eine Doppelbindung und infolgedessen eine Methylgruppe mehr in der Seitenkette vorhanden sein, als im Cholesterin, das bei gleicher Behandlung Methylheptanon gibt.

$CH_3—CH(CH_3)—CH(CH_3)—CH=O$

Methyl-isopropyl-acetaldehyd

$CH_3—CH(CH_3)—CH_2—CH_2—CH_2—C(CH_3)=O$

Methylheptanon

Die beiden übrigen Doppelbindungen müssen in einem Ring in Konjugation stehen. Beweise hierfür sind das Absorptionsspektrum, die Mol-Refraktion und die Fähigkeit des Ergosterins, mit Maleinsäureanhydrid eine Additionsverbindung zu bilden. Dies ist nur möglich, wenn sich die konjugierte Doppelbindung in ein und demselben Ring befindet, da sonst sterische Hinderung eintreten würde. Da dieser ungesättigte Ring unter Abspaltung von Methan in einen Benzolkern übergeht und da das so entstandene Neo-ergosterin mit Palladium zu einem Phenol dehydrierbar ist, läßt sich der Schluß ziehen, daß sich diese beiden Doppelbindungen im Ring B befinden müssen[30]).

Seitenkette

$CH_3$ CH $CH_2$ $H_2C$ C $CH_2$ C D $CH_2$ C CH $CH_2$ $H_2C$ C C A B H HO C C CH $CH_2$ CH

Neo-Ergosterin $C_{27}H_{40}O$

Oxydation →

COOH HOOC COOH HOOC

Benzoltetracarbonsäure

Die Hydroxylgruppe schließlich muß sich im Ring A befinden, denn die aus dem gesättigten Alkohol Ergostanol

[28]) F. Reindel und Kipphan, Annal. **493**, 181 (1932).

[29]) A. Guiteras, Z. Nakamiya und H. H. Inhoffen, Annal. **494**, 116 (1932).

[30]) A. Windaus, H. H. Inhoffen und S. v. Reichel, Annal. **510**, 248 (1934).

erhaltene Dicarbonsäure $C_{28}H_{48}O_4$ liefert bei der Brenzreaktion ein Keton, eine Reaktion, die unter den eingehaltenen Bedingungen nur bei den aus Ring A entstandenen Dikarbonsäuren möglich ist. Es ist also in Analogie zum Cholesterin auch beim Ergosterin die Stellung des Hydroxyls als am C-Atom 3 befindlich anzunehmen[31]).

Die Konstitutionsermittlung des Ergosterins war nur möglich auf Grund der mühsamen Forschungen, mit denen man im Verlaufe der letzten Jahre den Gallensäuren und Sterinen das Geheimnis ihrer Konstitution abgerungen hat. Die engen Beziehungen dieser Stoffe, die mit sehr wichtigen Lebensstoffen, den Sexualhormonen, nahe verwandt sind, sollen aus den vergleichenden nachfolgenden Formelbildern ersichtlich werden:

Cholesterin
$C_{27}H_{45}OH$

Ergosterin
$C_{28}H_{43}OH$

[31]) F. Reindel, Annal. 446, 134 (1928).

Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$

Cholansäure $C_{24}H_{40}O_2$

Androsteron $C_{19}H_{30}O_2$
(Testikelhormon)

Oestron $C_{18}H_{22}O_2$
(Follikelhormon)

D a r s t e l l u n g : Das beste und billigste A u s g a n g s m a t e r i a l z u r E r g o s t e r i n g e w i n n u n g ist die H e f e, besonders die in großen Mengen anfallende B i e r h e f e. Wie schon auf Seite 11 gesagt, kommen in der Hefe außer dem Ergosterin noch eine ganze Anzahl

anderer Mykosterine vor, besonders als steter Begleiter des Ergosterins das 7-Dehydro-cholesterin, welches ebenfalls ein Provitamin ist. Die Sterine finden sich im Hefefett. Die Darstellung bezweckt deshalb vor allem die Extraktion des Hefefettes, woraus das Ergosterin durch Krystallisation gewonnen und gereinigt wird.

1 kg Bierhefe enthält ungefähr 5,6 g Ergosterin, während die Menge des Gesamtfettes ungefähr 2—5% beträgt. Höhere Temperaturen, reichliche Luftzufuhr und saure Stoffe fördern die Fettbildung und damit die Bildung von Sterinen. Diese Tatsache wird in manchen Patenten berücksichtigt.

Von den Verfahren zur Gewinnung von Ergosterin aus Hefe für wissenschaftliche Zwecke soll hier das Verfahren von A. Windaus[32]) angeführt werden:

2 kg Preßhefe werden mit 2 Liter 95proz. Alkohol in einer Schale gut verrührt und die Lösung in einen 5-Liter-Rundkolben überführt. Man versetzt mit 400 g KOH in konzentrierter wäßriger Lösung und kocht 3 Stunden auf dem Wasserbad. Die Mischung wird abgesaugt. Der Rückstand wird nochmals mit Alkohol ausgekocht. Die alkoholischen Filtrate werden auf die Hälfte eingeengt und mit demselben Volumen Wasser verdünnt. Die Lösung wird dreimal im Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt. Man muß den Trichter vollkommen anfüllen, um Emulsionsbildung zu vermeiden. Die gelbe ätherische Lösung wird mit Salzsäure gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet.

Der scharf abgepreßte Heferückstand wird mit Äther im Soxhlet erschöpfend extrahiert, der Äther wie oben getrocknet und die gesamten ätherischen Lösungen auf dem Wasserbad zu einem hellgelben, nach Honig riechenden Öl eingedampft. Das Öl erstarrt langsam. Man löst in möglichst reinem siedenden Petroläther und kühlt in einer Kältemischung. Es erscheinen weiße Krystalle, die mit kaltem Petroläther gewaschen werden. Die Substanz wird aus Alkohol mehrere Male umkrystallisiert. Man erhält feine, silbrig glänzende Krystalle, die vor Licht geschützt werden müssen, da sie sich sonst verfärben. Ausbeute etwa 15 g aus 10 kg Preßhefe.

Nach einer Angabe von F. Reindel und Walter[33]), die sich auf die Darstellung aus Hefefett bezieht, wird Hefefett 5 Stunden mit wäßrig-alkoholischer KOH-Lösung geschüttelt, mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung wird mit Wasser gewaschen,

---

[32]) Ztschr. physiol. Chem. **124**, 8 (1933).
[33]) Annal. **460**, 218 (1928).

über Natriumsulfat getrocknet und soweit eingeengt, bis sich am oberen Rande Krystalle abscheiden. Nach 12stündigem Stehen saugt man die abgeschiedenen Krystalle ab und wäscht mit Alkohol und Äther nach. Das so erhaltene Rohprodukt wird acetyliert. Nach der Verseifung des Acetates erhält man reines Ergosterin.

Die technischen Methoden der Ergosteringewinnung sind durch Patente geschützt. Das bekannteste Verfahren beschreibt das Amer. Pat. 1 912 440. Es bezieht sich auf die Gewinnung aus Hefe. Auf der Gewinnung nach demselben Verfahren, jedoch mit dem Mycel des Schimmelpilzes Aspergillus niger als Ausgangsmaterial, liegt ein Amer. Pat. 1 893 317 vor. Das DRP. 542 667 schützt dieses Verfahren auf Verwendung von Heferückständen, die bereits zur Extraktion anderer Inhaltstoffe der Hefe gedient haben:

Die frische Hefe wird in der doppelten Menge Alkohol verteilt und dann unter Zusatz von alkoholischer Kalilauge 6 Stunden gekocht. Dabei kommen auf 1 kg Hefe etwa 200 g KOH und etwa 2,5 Liter Alkohol. Nach dem Kochen wird filtriert, das Unlösliche nochmals mit der Hälfte Kalilauge und Alkohol gekocht und filtriert. Der Rückstand kann zwecks Gewinnung weiterer Mengen Sterine nochmals so behandelt werden. Von den vereinigten Filtraten wird der Alkohol abdestilliert und der Rest durch 24 Stunden auf 0° gehalten. Die sich bildenden Krystalle werden abfiltriert und das Filtrat nochmals auf etwa $^2/_3$ seines Volumens eingeengt. Man läßt wieder 24 Stunden bei 0° stehen. Die in den beiden Gängen erhaltenen Krystalle werden im Soxhletapparat mit Äther ausgezogen. Beim Verdampfen des Äthers und Umkrystallisieren aus Alkohol erhält man weiße glänzende Blättchen vom richtigen Schmelzpunkt. Ausbeute 15 g Ergosterin aus 10 kg Hefe (abgepreßt).

Ähnlich dem Verfahren von Reindel (a.a.O.) kann das Hefefett erst mit Aceton extrahiert werden. Das Amer. Pat. 1 842 929 schützt ein solches Verfahren, das in seinen weiteren Punkten dem oben geschilderten Verfahren fast gleich ist. Nur wird die Abkühlung der Seifenlösung auf — 20° getrieben, wobei der größte Teil des Ergosterins ausfällt.

Ein umgekehrter Extraktionsvorgang wird eingeschlagen, wenn man die Hefe mit wäßrigen Alkalien bei 120° unter Druck direkt verseift und die Lösung mit Benzol oder Äther auszieht (Amer. Pat. 1 941 097 und DRP. 549 110). Die Ausbeuten werden jedoch größer, wenn man nicht unter Druck im Autoklaven, sondern im offenen Gefäß arbeitet (DRP. 553 915). Durch die Alkalibehandlung wird die Hefe

durch Zerfall der Zellen besser aufgeschlossen, wodurch das gesamte Ergosterin in Lösung geht. Man erhält nach dem Verfahren aus 1 kg Preßhefe 3,3 g Ergosterin.

Die Vorschrift lautet folgendermaßen:

100 Teile Preßhefe werden mit 25 Teilen Ätzkali und gleichviel Wasser 35 Stunden am Rückflußkühler mit ungespanntem Dampf unter Rühren erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch mehrmals mit Benzol oder einem anderen geeigneten organischen Lösungsmittel ausgezogen. Das die Sterine enthaltende Lösungsmittel wird bis auf 1—2 Teile (auf 100 Teile Hefe bezogen) eingedampft, worauf beim Abkühlen bereits der größte Teil des Ergosterins auskrystallisiert. Die Mutterlauge wird zur Trockne eingedampft, mit wenig Petroläther verrührt und die Mischung nach starkem Abkühlen abgenutscht. Aus dem Rückstand lassen sich durch Umkrystallisieren aus Äther neben einer weiteren Menge Ergosterin noch 0,07 Teile Zymosterin gewinnen, das durch Umkrystallisieren mit Alkohol gereinigt werden kann.

Zur Erzielung einer größeren Ausbeute kann man die Hefe durch Autolyse oder Selbstverdauung aufschließen. Man arbeitet nach dem Verfahren der DRP. 517 499 und 520 853. Zur Verhinderung bakterieller Zersetzung gibt man auf 1 kg Hefe vom Trockengewicht 250 g im ganzen 25 ccm Essigester zu und stellt mit verdünntem Ammoniak auf $p_H = 6—7$ ein. Das Gemisch bleibt unter Luftabschluß sich selbst überlassen. Dann trennt man vom massenhaft ausgefallenen Tyrosin durch Filtrieren über ein engmaschiges Drahtsieb ab und zentrifugiert die Autolysenflüssigkeit, um die nicht gelösten Anteile zu gewinnnen. Diese bilden eine weiche Masse, die das gesamte Ergosterin enthält. Es wird durch Verseifen der Fette mit Alkali und Auslösen mit einem geeigneten Lösungsmittel aus der Seifenlösung gewonnen.

Durch Vermischen von Hefe mit Kohlensäureschnee, Pulverisieren und Ausziehen des Pulvers mit Alkohol, gewinnt das Österr. Pat. 112 425 und 117 621 die Sterine in Form eines gelblichen Öls in einer Ausbeute von 1,5% auf Hefe berechnet, aus dem sich das Ergosterin beim Stehen ausscheidet.

Die im allgemeinen bei den verschiedenen Hefesorten fast gleichbleibende Ausbeute an Ergosterin kann durch eine geeignete Behandlung der Hefestämme erhöht werden. Nach dem Engl. Pat. 396 206 werden Hefekulturen bei 30—38° gut durchlüftet, wobei ein Zusatz von Methylenblau als Sauerstoffüberträger empfohlen wird. Zusatz von Salzen, die keinen assimilierbaren Stickstoff enthalten, sollen die Ausbeute erhöhen.

Zur Gewinnung von Ergosterin dient nach dem DRP. 549 110 auch die Extraktion von Steinpilzen.

Zur Reinigung von Rohergosterin wird aus verschiedenen Lösungsmitteln umkrystallisiert. Von Vorteil sind oft Gemische verschiedener organischer Lösungsmittel. Nach dem Amer. Pat. 1 775 548 kann man am besten mit einem Gemisch von 3 Vol. Aceton und 1 Vol. Äther arbeiten. Man löst das Rohergosterin in der 50fachen Menge des Lösungsmittels und kühlt dann auf 0° ab.

Eine wiederholt erwähnte Methode zur Reinigung unreinen Ergosterins bildet die Veresterung desselben, wobei man zweckmäßig das Acetat, das Benzoat, Palmitat oder Allophanat verwendet. Die Ester, welche meist sehr schön krystallisieren, lassen sich leicht reinigen und geben bei der Verseifung reinstes Ergosterin. Das Belg. Pat. 416 160 empfiehlt Veresterung mit einer starken Säure, Adsorption der Ester und weitere Anreicherung durch Krystallisation.

## 2. Das Provitamin $D_3$: 7-Dehydro-cholesterin

Vorkommen: Das 7-Dehydro-cholesterin ist das bisher einzige Provitamin D der höheren Säugetiere und des Menschen. Es wird vor allem in der Haut gespeichert und ist damit der Bestrahlung durch das Sonnenlicht zugänglich. Es kommt nur in tierischen Materialien als Begleiter des Cholesterins vor und zwar in Mengen von 4 bis 4,5% des Cholesterins. Diese Konzentration ist zu gering, um eine Darstellung aus Haut rentabel zu machen. Eine der besten natürlichen Quellen ist die Schwarte des Schweins, aus deren Steringemisch das 7-Dehydro-cholesterin durch Adsorption an Aluminiumoxyd rein dargestellt werden kann[34]). Dagegen kann es leicht aus Cholesterin durch Dehydrierung dargestellt werden (siehe weiter unten).

Nachweis: Das Provitamin $D_3$ ist wie Ergosterin mit Digitonin fällbar. Auch einige der bei Ergosterin erwähnten Farbreaktionen sind beim Provitamin $D_3$ gleich. Die Färbung mit Antimontrichlorid schlägt jedoch bei 7-Dehydro-cholesterin allmählich in Blau um.

Eigenschaften: 7-Dehydro-cholesterin hat die Bruttoformel $C_{27}H_{43}OH$. Es bildet aus Alkohol-Äther krystallisiert feine Täfelchen Die Löslichkeitsverhältnisse sind gleich denen des Ergosterins. Sein Schmp. liegt bei 142—143,5°. Das Drehungsvermögen beträgt: $[\alpha]_D^{20}$

[34]) A. Windaus und F. Bock, Ztschr. physiol. Chem. **245**, 168 (1937).

= — 113,6° in Chloroform. In seinen chemischen Eigenschaften stimmt 7-Dehydro-cholesterin weitgehend mit dem Ergosterin überein. Das Maximum der Absorption (in Alkohol) beträgt ebenfalls 281 mμ[35]).

Von den Derivaten sei das 7-Dehydro-cholesteryl-benzoat beschrieben. Es schmilzt bei 183°; $[\alpha]_D^{20}$ = — 53,2° (Chloroform)[35]). Das Acetat schmilzt bei 130°; $[\alpha]_D^{20}$ = — 85,3°[34]). Der m-Dinitrobenzoesäureester schmilzt bei 207°; $[\alpha]_D^{20}$ = — 45,7°[35]).

Konstitution: Das 7-Dehydro-cholesterin unterscheidet sich vom Ergosterin nur durch die Seitenkette. Es hat zwei konjugierte Doppelbindungen im Ring B. Die Seitenkette ist gesättigt und hat eine Methylgruppe weniger als das Ergosterin, die Seitenkette entspricht also der des Cholesterins[35]). Die Konstitution folgt aus der Teilsynthese vom Cholesterin aus:

CH₃ — CH—(CH₂)₃—CH—CH₃ — CH₃; HO— ... Cholesterin —Acetylierung→ CH₃.CO.O— ... —+ CrO₃→

CH₃.CO.O— ... O — 3-Acetyl-7-oxocholesterin —Al-Isopropylat→ HO— ... H, OH — 7-Oxycholesterin —Benzoylierung→

CO.O— C₆H₅ ... CH, H, O.CO C₆H₅ — Dibenzoat —Thermische Benzoesäureabspaltung→ CO.O— C₆H₅ ... C, CH, CH — 7-Dehydro-cholesteryl-benzoat —Verseifen→

[35]) A. Windaus, H. Lettré und Fr. Schenk, Annal. **520**, 98 (1935).

7-Dehydro-cholesterin

*Darstellung*: Die ergiebigste Methode ist die *Teilsynthese* aus *Cholesterin*, welche von *Windaus*, *Lettré* und *Schenck* beschrieben wurde[35]):

Man löst 214 g Cholesterylacetat ($^1/_2$ Mol.) in 2300 g heißen Eisessig. Man kühlt auf 55° ab und fügt unter beständigem Rühren, ohne die Temperatur zu erhöhen, Tropfen für Tropfen eine Lösung von 150 g Chromsäureanhydrid in 100 ccm Wasser und 100 ccm Eisessig zu. Nach dieser Operation, die ungefähr zwei Stunden dauert, hält man die Mischung während zwei Stunden auf 55°, worauf man abkühlt. Der Überschuß an Chromsäureanhydrid wird durch Zugabe von 30 ccm Alkohol reduziert. Die essigsaure Lösung wird bis zur Bildung von Krystallen konzentriert, worauf man nach Zugabe von 50 ccm Wasser stehen läßt. Man filtriert von den Krystallen ab und wäscht sie mit Essigsäure. Ausbeute 49,5 g. Schmp. 154—156°. Die grünlich gefärbten Krystalle werden in Äther gelöst und der Äther verdampft. Die größte Menge des gebildeten 7-Keto-cholesterin-acetats krystallisiert aus. Man filtriert und fällt das Filtrat mit Alkohol. Nach nochmaligem Filtrieren fügt man zu dem Filtrat, welches immer noch größere Mengen des Ketons enthält, eine Lösung von Natriumchlorid und schüttelt dreimal mit Äther aus. Die ätherische Lösung wird zuerst mit Kochsalzlösung, dann mit Sodalösung, hierauf wieder mit NaCl-Lösung gewaschen und eingedampft. Der Rückstand wird in 200 ccm Alkohol aufgenommen. Das Keton wird mit Wasser gefällt und aus verdünntem Alkohol mehrmals umkrystallisiert. Schmp. 153—154°. Gesamtausbeute 28%.

Zu 72 g 7-Keto-cholesterin-acetat, gelöst in 450 ccm Isopropylalkohol, fügt man 32 g Aluminium-isopropylat und erhitzt langsam wäh-

rend ungefähr 10 Stunden. Zu der konz. Flüssigkeit gibt man eine heiße Lösung von 40 g Kaliumhydroxyd in 600 ccm Methylalkohol und schüttet nach einer halben Stunde alles in 4 Liter Wasser, läßt mehrere Stunden absitzen und filtriert. Der Niederschlag wird in Äther gelöst, die Lösung gewaschen und getrocknet. Nach dem Konzentrieren wird mit Petroläther gefällt. Man erhält 41,5 g 7-Oxy-cholesterin, die in 120 ccm wasserfreiem Pyridin gelöst werden. Man fügt dazu in kleinen Portionen und unter Kühlung 70 g Benzoylchlorid und schüttet alles nach 2 Tagen in viel eiskaltes Wasser. Das sich bald abscheidende Öl wird fest und nach dem Abgießen der Wasser-Pyridin-Lösung wird es in Methylalkohol aufgenommen und einige Zeit am Wasserbad erwärmt. Am Eis bilden sich Krystalle, die aus Äther-Methylalkohol oder Aceton-Methylalkohol umkrystallisiert werden. Ausbeute 30 g an 7-Oxy-cholesterin-dibenzoat.

Aus dem Dibenzoat kann man durch thermische Abspaltung eines Mol. Benzoesäure zum 7-Dehydro-cholesteryl-benzoat kommen. Man erhitzt im Vakuum während $1^1/_2$ Stunden auf 200°, nimmt den Rückstand in wenig Chloroform auf, fällt mit Aceton und krystallisiert aus dem Chloroform-Aceton-Gemisch um.

Zur Verseifung des Benzoats werden etwa 8,5 g desselben in Benzol gelöst und diese Lösung Tropfen für Tropfen in 600 ccm kochende 1proz. alkohol. Kalilauge eingegossen. Das Benzol wird sofort abdestilliert, die Lösung wird auf etwa 150 ccm konzentriert und auf Eis gestellt. Das 7-Dehydro-cholesterin krystallisiert hierauf aus.

### 3. Das Provitamin $D_4$: 22-Dihydro-ergosterin

Weder das Provitamin noch das daraus erhältliche Vitamin $D_4$ sind bisher in der Natur beobachtet worden. Es ist ein ausgesprochen künstliches Vitamin D.

Es entsteht durch Hydrierung der seitenständigen Doppelbindung im Ergosterin, ähnelt also dem 7-Dehydro-cholesterin, hat aber eine Methylgruppe in der Seitenkette mehr[36]).

Es hat die Bruttoformel $C_{28}H_{45}OH$ und krystallisiert gut. Sein Schmp. liegt bei 152°; $[\alpha]_D^{19} = -109,0°$. Das Acetat schmilzt bei 157—158°; $[\alpha]_D^{17} = -74,8°$.

Die Konstitution geht aus dem folgenden Formelbild hervor:

[36]) A. Windaus und G. Trautmann, Ztschr. physiol. Chem. **247**, 168 (1937); DRP. 642 759.

Die Darstellung geschieht folgendermaßen[36a]:

Man erhitzt Ergosterinacetat und Maleinsäureanhydrid in Xylol durch 8 Stunden bei 130°. Das Additionsprodukt wird in Aceton oder Essigester gelöst und in Gegenwart von feinverteiltem Palladium bis zum Verbrauch von gerade 1 Mol. Wasserstoff hydriert. Durch Destillation im Hochvakuum von 0,001 mm wird die Maleinsäure wieder abgespalten. Das 22-Dihydro-ergosteryl-acetat wird durch 2stündiges Erwärmen in alkoholischer Kalilauge im Stickstoffstrom verseift. Es wird aus Essigester-Methanol umkrystallisiert

## 4. Weitere Provitamine D

7-Dehydro-sitosterin: Auf dem gleichen Wege, auf dem man zum 7-Dehydro-cholesterin kommt, gelingt es auch, aus dem pflanzlichen Sterin Sitosterin ein Provitamin D herzustellen. Sitosterin kommt besonders im Sojabohnenöl vor. Es wird von dem Begleiter Stigmasterin befreit, in das Acetat übergeführt und mit Chromsäureanhydrid oxydiert. Das 7-Keto-sitosterin wird in der bekannten Weise reduziert und benzoyliert, worauf genau wie bei der Darstellung des 7-Dehydro-cholesterins weitergearbeitet wird.

Das Provitamin bildet Krystalle vom Schmp. 144—145°; $[\alpha]_D^{21}$ = — 116° (in Chloroform). Es hat die Bruttoformel $C_{29}H_{47}OH$. Das Acetat schmilzt bei 151°; $[\alpha]_D^{21}$ = — 71° (in Chloroform). Das Benzoat schmilzt bei 149°; $[\alpha]_D^{21}$ = — 54° (in Chloroform). In seinen chemischen und physikalischen Eigenschaften ähnelt es sehr dem Ergosterin und dem 7-Dehydro-cholesterin. Die Konstitution ist folgende[37]:

[36a]) Näheres s. H. Inhoffen, Ann. 508, 81 (1934); A. Windaus und R. Langer, Ann. 508, 105 (1934).

[37]) W. Wunderlich, Ztschr. physiol. Chem. **241**, 116 (1936).

7-Dehydro-stigmasterin: Über Darstellung und Eigenschaften ist hier nichts anderes zu sagen. Der Körper bildet Krystalle vom Schmp. 154°; $[\alpha]_D^{20} = -113{,}15^0$ (in Benzol). Das Acetat hat einen Schmp. von 172°, das Benzoat einen solchen von 180°. Es scheint kein echtes Provitamin zu sein, da die Wirksamkeit des daraus dargestellten Vitamins sehr gering ist, von manchen Autoren sogar ganz verneint wird[38]).

In allen bekannten Provitaminen D ist die Konstitution und Konfiguration an den Ringen A, B, C und D gleich. Die Unterschiede beschränken sich allein auf die lange aliphatische Seitenkette. Kleine Änderungen dieser Seitenkette bewirken keine Vernichtung der Eigenschaft als Provitamin. Dagegen bewirken die geringsten Veränderungen in den Ringen die Unfähigkeit zur Umwandlung

[38]) O. Linsert, Ztschr. physiol. Chem. **241**, 125 (1936); Engl. Pat. 454 260.

zum aktiven Vitamin D. Der Ringkomplex in der für die Provitamine D charakteristischen Form ist daher unbedingt notwendig, wenn aus dem Provitamin ein aktives Vitamin D entstehen soll. Besonders wichtig sind die Hydroxylgruppe und die beiden konjugierten Doppelbindungen. Die Unterschiede in der Seitenkette sind aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich. Das größte Molekulargewicht unter allen Provitaminen D besitzt demnach das 7-Dehydro-sitosterin.

| | |
|---|---|
| Ergosterin | $-CH(CH_3)-CH=CH-CH(CH_3)-CH<(CH_3)_2$ |
| Cholesterin | $-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-CH_2-CH<(CH_3)_2$ |
| Sitosterin | $-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-CH(C_2H_5)-CH<(CH_3)_2$ |
| Stigmasterin | $-CH(CH_3)-CH=CH-CH(C_2H_5)-CH<(CH_3)_2$ |

## Die eigentlichen Vitamine D

Wie schon erwähnt, findet sich in der Natur als sicher nachweisbares Vitamin D nur das Vitamin $D_3$, dessen Provitamin das 7-Dehydro-cholesterin ist. Es ist jedoch nachgewiesen, daß auch noch das Vitamin $D_2$ in der Natur vorkommt. Gewisse Beobachtungen sprechen dafür, daß dem Provitamin Ergosterin eine gewisse Bedeutung als Quelle antirachitisch wirkender Stoffe zukommt, da es sich fast überall als Begleiter des Cholesterins findet und im Organismus der Wirkung aktivierender Strahlen zugänglich ist. Die schon erwähnte Tatsache, daß das antirachitische Prinzip der Winterbutter gegen Alkalien empfindlich ist — zum Unterschied von Lebertranvitamin —, läßt den Schluß zu, daß es aus einem anderen Provitamin entstanden ist und vielleicht ein Isomeres des Vitamins $D_3$ ist.

### 1. Das Vitamin $D_2$

Vorkommen: Man hielt lange Zeit das durch Bestrahlen von Ergosterin erhaltene antirachitische Vitamin für identisch mit dem in den Leberölen von Fischen und auch in anderen tierischen und pflanzlichen Materialien vorkommende Vitamin D. Erst in letzter Zeit ist der

Nachweis erbracht worden, daß sich das natürliche Vitamin in vielen Eigenschaften von dem künstlichen Vitamin $D_2$ unterscheidet. Das Vitamin $D_2$ kommt jedoch in der Natur vor. Seine Gewinnung beschränkt sich aber im allgemeinen auf die synthetische Darstellung aus Ergosterin durch Bestrahlung. Dabei wurde zunächst eine gut krystallisierende Verbindung erhalten, die sehr stark antirachitisch wirksam war und die man als einheitliches Vitamin betrachtete. Weitere Versuche ergaben jedoch, daß es sich bei diesem als *Vitamin* $D_1$ bezeichneten Körper um einen *Mischkrystall* des Vitamins $D_2$ mit einem anderen Bestrahlungsprodukt, dem *Lumisterin*, handelte. Es gibt also kein Vitamin $D_1$ als chemisches Individuum.

Es ist für die Bestrahlung selbst ganz gleich, ob man das reine Ergosterin bestrahlt oder lediglich ergosterinhaltige tierische oder pflanzliche Materialien. Es ist jedoch immer nur das Ergosterin selbst, welches in das Vitamin $D_2$ umgewandelt wird, und unter den Bestrahlungsprodukten ist wieder nur das Vitamin $D_2$ antirachitisch aktiv, während andere dabei entstehende Produkte vollkommen inaktiv sind.

*Zusammensetzung* und *Konstitution*: Vitamin $D_2$ besitzt die gleiche Bruttoformel wie das Ergosterin: $C_{28}H_{43}OH$. Es hat die folgende Konstitution[39]:

Im Vitamin $D_2$ liegen *vier Doppelbindungen* vor, die durch katalytische Hydrierung mit Platin nachweisbar sind; mit Benzopersäure reagieren nur drei. Die Selendehydrierung ergibt, abweichend vom Ergo-

[39]) A. *Windaus* und W. *Thiele*, Annal. **521**, 160 (1935); v. *Auwers*, Annal. **533**, 255 (1938); A. *Windaus* und *Grundmann*, Annal. **524**, 295 (1936); J. M. *Heilbron*, K. M. *Samant* und F. S. *Spring*, Nature **135**, 1072 (1935); J. Soc. Chem. Ind. **54**, 795 (1935).

sterin, *kein* $\gamma$-*Methyl-cyclopenteno-phenanthren*, was die Verschiedenheit des Ringskeletts vom Ergosterin ergibt. Durch Chromsäureoxydation wird ein *Aldehyd* $C_{21}H_{34}O$, durch Oxydation mit Permanganat ein *Keton* $C_{19}H_{32}O$ und durch Ozonspaltung eine *Ketosäure* $C_{13}H_{20}O_3$ erhalten. Diese drei Spaltprodukte erfassen den gleichen Teil des Moleküls in mehr oder weniger unveränderter Form. Das abgetrennte Spaltstück muß den hydroxylhaltigen Ring A enthalten, der daher im Vitamin $D_2$ nicht wie im Ergosterin mit dem übrigen Teil kondensiert sein kann. Die Aldehydgruppe des Aldehyds $C_{21}H_{34}O$ muß dem ursprünglichen C-Atom 6 entstammen.

Vit. $D_2 + CrO_3 \longrightarrow$ Aldehyd $C_{21}H_{34}O$

Vit. $D_2 + KMnO_4 \longrightarrow$ Keton $C_{19}H_{32}O$

Vit. $D_2 + O_3 \longrightarrow$ Ketosäure $C_{13}H_{20}O_3$

Wenn man an die Acetylverbindung des Vitamins Maleinsäureanhydrid addiert, das mit konjugierten Doppelbindungen unter Diensynthese und Aufbau eines Sechsrings reagiert, das Reaktionsprodukt in den Dimethylester überführt und dann hydriert, so wird dabei die seitenständige Doppelbindung abgesättigt. Durch Ozonisation erhält man ein *cyclisches Keton* von der Zusammensetzung $C_{19}H_{34}O$, dessen Zusammensetzung beweist, daß in dem Maleinsäureaddukt zwischen den C-Atomen 7 und 8 eine Doppelbindung liegt. Das Keton enthält nicht

mehr den hydroxylhaltigen Ring A und den Maleinsäurerest, dagegen noch die Ringe C und D und die aliphatische Seitenkette.

Vit. $D_2$ → Acetylierung + Maleinsäure-anhydrid

Maleinsäure-Addukt

Veresterung und katal. Hydrierung

+ $O_3$

Keton $C_{19}H_{34}O$

Das Additionsprodukt von Vitamin $D_2$ mit Maleinsäure-anhydrid liefert bei der Dehydrierung mit Platin Naphthalin und 2-Naphthoesäure; mit Selen entsteht 2.3-Dimethylnaphthalin. Die Bildung dieses Körpers läßt sich durch den Übergang von Carboxyl in Methyl erklären. Die Addition der Maleinsäure kann nur an einer konjugierten Doppelbindung erfolgt sein und zwar an den C-Atomen 6 und 19.

Maleinsäure-Addukt

Dehydrierung mit Pt

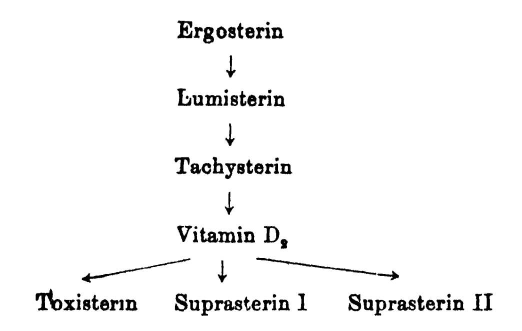
Naphthalin — 2-Naphthoesäure — Dehydrierung mit Selen → 2,3-Dimethylnaphthalin

Die Veränderung des Ergosterins bei der Bestrahlung besteht also in einer Ringsprengung zwischen den C-Atomen 9 und 10 und Bildung einer Methylengruppe am C-Atom 10. Vitamin $D_2$ ist als Isomeres des Ergosterins anzusprechen, da analytische Zusammensetzung und Molekulargewicht gleich sind.

Entstehung des Vitamins $D_2$: Die Umlagerung des Ergosterins in das Vitamin $D_2$ ist ein verwickelter Vorgang, der erst in den letzten Jahren seine endgültige Erklärung erfuhr. Es ist das Verdienst von A. Windaus[40]) und von F. A. Askew[41]), R. B. Bourdillon und ihren Mitarbeitern, die Vorgänge und die Zwischenprodukte bei der Bestrahlung erfaßt und in ihrer Konstitution erkannt zu haben. Der Bestrahlungsvorgang geschieht am besten in Quarzgefäßen unter Luftausschluß und in benzolischer Lösung durch die ultravioletten Strahlen einer Quecksilberlampe oder einer Magnesiumfunkenstrecke. Wirksam ist nur das vom Ergosterin absorbierte Licht zwischen 250 und 300 m$\mu$. Die Reaktion führt zu einer Reihe von Verbindungen, die mit Hilfe ihrer Absorptionsspektren einfach zu unterscheiden sind:

[40]) A. Windaus und A. Lüttringhaus, Dtsch. med. Wschr. **1932**, 1669.

[41]) Proc. Roy. Soc. London (B) **107**, 76 (1930); **108**, 340 (1931); **109**, 488 (1932).




Die Bestrahlung führt nicht zur Einstellung von Gleichgewichten, und es werden bei der Bestrahlung eines Sterins aus der obigen Reihe immer die darunterstehenden Substanzen erhalten, niemals jedoch eine der darüberstehenden. Es besteht aber die Möglichkeit, daß sprunghafte Übergänge stattfinden. Aus dem Reaktionsgemisch läßt sich das unveränderte Ergosterin durch Fällen mit Digitonin entfernen. Das Tachysterin kann als Additionsprodukt mit Citraconsäure-anhydrid abgetrennt werden. Das reine Vitamin $D_2$ wird über den 3.5-Dinitrobenzoesäureester dargestellt. Mit Ausnahme des Toxisterins sind alle Zwischenprodukte krystallin erhalten worden; vom Tachysterin jedoch nur gewisse Verbindungen: Dinitrotoluylsäureester, Acetylendicarbonester und Addukte mit Citraconsäure.

Die zum Vitamin $D_2$ führenden Bestrahlungsprodukte sind heute soweit aufgeklärt, daß ihre Konstitutionsformeln aufgestellt werden können. Gleichzeitig ist der Vorgang bei der Umwandlung des Ergosterins formelmäßig darstellbar.

Die photochemische Reaktion setzt am C-Atom 10 ein, dessen Substituenten räumlich umgelagert werden. Das Produkt dieser Umordnung ist das erste Bestrahlungsprodukt, das Lumisterin:

Das Lumisterin besitzt die gleiche Bruttoformel wie das Ergosterin. Es hat drei Doppelbindungen, die sich an der gleichen Stelle befinden wie im Ergosterin. Dagegen ist es mit Digitonin nicht mehr fällbar. Da nur solche Sterine mit diesem Saponin eine Additionsverbindung geben, die das Hydroxyl am C-Atom 3 und die Methylgruppe am C-Atom 10 in cis-Stellung zueinander aufweisen, muß eine sterische Umlagerung der Methylgruppe am C-Atom 10 eingetreten sein[42]).

Lumisterin bildet Krystalle, die bei 118⁰ schmelzen. Es ist im Gegensatz zum Ergosterin stark rechtsdrehend: $[\alpha]_D^{19} = +191{,}5^0$ (in Aceton); $[\alpha]_{5461}^{19} = +235{,}4^0$. Das Absorptionsmaximum ähnelt sehr dem des Ergosterins. Es ist gegen Sauerstoff wenig empfindlich. Mit Maleinsäureanhydrid reagiert es nicht. Es besitzt keine antirachitische Wirkung Mit Vitamin $D_2$ bildet es eine gut krystallisierende Molekularverbindung, die ursprünglich für das antirachitische Vitamin gehalten wurde und die Bezeichnung $D_1$ erhielt. Die Spaltung erfolgt über die Essigsäureester.

Von den krystallisierten Derivaten des Lumisterins seien das Acetat[43]) (Schmp. 100⁰; $[\alpha]_D^{18} = +130{,}5^0$) und die m-Dinitrobenzoesäure-Verbindung (Schmp. 140⁰; $[\alpha]_D^{24} = +24^0$), sowie das Allophanat (Schmp. 217⁰ [Zers.]); $[\alpha]_D^{17} = +75{,}4^0$) erwähnt.

Bei der Reduktion des Lumisterins mit Alkohol und Natrium resultiert Dihydrolumisterin[44]), Schmp. 138⁰; das Acetat schmilzt bei 143⁰. Beim Erhitzen mit Natrium-äthylat lagert sich die Dihydroverbindung um in Epidihydro-lumisterin, Schmp. 140⁰; Acetat Schmp. 127⁰. Ein Isolumisterin[44]) (Schmp. 138⁰; $[\alpha]_D^{20} = -125^0$ (Chloroform) entsteht aus Lumisterin durch Einwirkung von Salzsäure.

Die nächste Stufe der Vitamin $D_2$-Darstellung ist die Sprengung der C—C-Bindung 9—10, wobei das Tachysterin mit vier Doppelbindungen und nur drei Ringen entsteht.

---

[42]) K. Dimroth, Ber. **68**, 3, 539 (1935); A. Windaus und K. Dimroth, Ber. **70**, 376 (1937); J. M. Heilbron, T. Kennedy und Mitarb., J. Chem. Soc. London **1938**, 869.

[43]) A. Windaus, K. Dithmar und E. Fernholz, Annal. **493**, 259 (1932); P. Setz, Z. physiol. Chem. **215**, 183 (1933); J. M. Heilbron, F. S. Spring und P. A. Stewart, J. Chem. Soc. London **1935**, 1221.

[44]) A. Windaus, K. Dithmar und E. Fernholz, Annal. **493**, 259 (1932).

T a c h y s t e r i n ist dem Ergosterin isomer, hat also dieselbe Bruttoformel $C_{28}H_{44}O$; die Formel ist ziemlich wahrscheinlich folgende[45]:

Aus diesem Bestrahlungsprodukt kann man durch Dehydrierung mit Selen kein $\gamma$-Methyl-cyclopenteno-phenanthren mehr erhalten[45], womit erwiesen ist, daß in dem Sterinringgefüge eine Veränderung eingetreten ist. Die vier Doppelbindungen lassen sich durch Anlagern von Citraconsäureanhydrid, durch Wasserstoff und durch Sauerstoff nachweisen. Durch Hydrierung läßt es sich in ein Dihydroderivat überführen, für das noch drei Doppelbindungen nachweisbar sind. Eine Methylengruppe ist nicht mehr nachweisbar. Das Tachysterin reagiert außerordentlich schnell mit Maleinsäureanhydrid und Citraconsäureanhydrid. Es ist gegen Sauerstoff sehr empfindlich; daher die Empfindlichkeit der hohen Bestrahlungsprodukte gegen Luftoxydation.

Die gute Reaktionsfähigkeit mit Citraconsäureanhydrid gestattet die Isolierung des Tachysterins aus den Bestrahlungsprodukten. Es ist nicht krystallisiert erhalten worden, dagegen sind einige krystallisierte Verbindungen bekannt. Der E s s i g s ä u r e e s t e r schmilzt bei 161°; $[\alpha]_D = +75{,}2^0$ (in Chloroform). Der 3.5 - D i n i t r o - 4 - m e t h y l - 1 - b e n z o e s ä u r e - e s t e r schmilzt bei 154°[46].

Das Tachysterin selbst ist linksdrehend: $[\alpha]_D^{18} = -70^0$. Es kann die Rachitis nicht heilen. Dagegen hat es die Eigenschaft, den S e r u m - k a l k s p i e g e l b e t r ä c h t l i c h z u e r h ö h e n. Das D i h y d r o - t a c h y s t e r i n ist noch 10mal wirksamer. Es wird durch Hydrieren des T a c h y s t e r i n - 3.5 - d i n i t r o - 4 - m e t h y l - 1 - b e n z o e s ä u r e -

[45]) H. L e t t r é, Annal. **511**, 280 (1934); A. W i n d a u s, D e p p e und W u n d e r l i c h, Annal. **533**, 118 (1938).

[46]) A. W i n d a u s, F. v. W e r d e r und A. L ü t t r i n g h a u s, Annal. **499**, 188 (1932).

esters mit Natrium in Äthyl- oder Propylalkohol dargestellt. Ausbeute 60%. $[\alpha]_D = +20^0$. Das Verfahren ist unter DRP. 624 231 geschützt. Das Dihydroderivat kommt unter der Bezeichnung A.T. 10 (Antitetanische Substanz) in den Handel.

Das nächste Produkt der Bestrahlungsreaktionen ist das Vitamin $D_2$. Seine Besprechung erfolgt weiter unten. Da das überbestrahlte Vitamin $D_2$ jedoch giftig ist und ein charakteristisches Absorptionsspektrum hat, war auf die Gegenwart weiterer Substanzen zu schließen. Man hat drei Substanzen isolieren können, wobei es unklar ist, ob diese gleichmäßig aus dem überbestrahlten Vitamin entstehen, oder ob sie nacheinander im Sinne des Bestrahlungsschemas entstanden sind. Alle drei Produkte sind antirachitisch unwirksam. Während Toxisterin bisher nicht krystallisiert erhalten werden konnte, sind die Suprasterine I und II krystallisiert. Für das Suprasterin I wird die folgende Formel als wahrscheinlich angesehen[47]):

$CH_3$
CH—CH=CH
$CH_3$ CH CH—$CH_3$
$CH_2$
$H_2C$ C $CH_2$ CH—$CH_3$
$CH_3$ $CH_3$
$CH_2$ HC CH $CH_2$
$H_2C$ C C
C
H>C<HO CH
$CH_2$ CH

Bei der Bildung der Suprasterine ist wieder Ringschluß eingetreten, jedoch nicht, wie beim ursprünglichen Ergosterin, zwischen den C-Atomen 9 und 10, sondern an anderen Stellen, wie die Ergebnisse der Dehydrierung zeigen. Auf Grund der Ultraviolettabsorption, die bei den Suprasterinen bis 220 m$\mu$ fehlt, kann angenommen werden, daß die beiden Doppelbindungen isoliert liegen. Alle drei Produkte sind Isomere des Ergosterins und geben mit Digitonin keine Fällung.

Toxisterin hat ein Drehungsvermögen $[\alpha]_D^{18} = -70^0$. Absorptionsmaximum bei 248 m$\mu$.

Suprasterin I wird in Form des Allophanats durch dessen geringere Löslichkeit in Essigester vom besser löslichen Suprasteryl-II-

[47]) Müller, Z. physiol. Chem. **233**, 223 (1935).

allophanat getrennt. Nach der Verseifung erhält man das reine Suprasterin I:

Schmp. 104°; $[\alpha]_D^{18} = -76°$ (Chloroform). Absorptionsmaximum 250 mμ. Acetat: Schmp. 73°; $[\alpha]_D^{18} = -71°$ (Chloroform). Allophanat: Schmp. 225—226°; $[\alpha]_D^{18} = -58{,}4°$.

Suprasterin II: Schmp. 109—110°; $[\alpha]_D^{19} = +62{,}9°$. Absorptionsmaximum wie bei Suprasterin I. Allophanat: Schmp. 224°; $[\alpha]_D^{18} = +80°$.

Die Suprasterine sind im Gegensatz zum Toxisterin nur wenig giftig.

## Vitamin $D_2$

Eigenschaften: Der allgemeine chemische Typus der Vitamine D wird aus der folgenden, etwas anders geschriebenen Formel für das Vitamin $D_2$ ersichtlich. Da sich die einzelnen Vitamine D nur durch die Struktur der Seitenkette (Sk) voneinander unterscheiden, kann man die D-Vitamine als hydrierte Abkömmlinge des Phenyläthyl-indans bezeichnen.

$CH_2$
$CH_2$ C $CH_2$ $CH_2$
$H_2C$ C=CH—CH=C $CH_2$
C $CH_2$ HC C—$CH_3$
$H_2C$
H OH $H_2C$ CH
CH—$CH_3$
Sk

Das Vitamin $D_2$ bildet farblose und geruchlose Nadeln oder Prismen. Schmp. 114,5—117°. Es ist rechtsdrehend: $[\alpha]_D^{20} = +102°$ (Alkohol); $[\alpha]_D^{20} = +52°$ (Chloroform); $[\alpha]_{5461}^{20} = +119—122°$ (Alkohol); $[\alpha]_{5461}^{20} = +62°$ (Chloroform); $[\alpha]_D^{18} = +82{,}6°$ (Aceton). Absorptionsmaximum im Ultraviolett 265 mμ. Es ist zu bemerken, daß bei der Bestrahlung der Provitamine mit 2 konjugierten ringständigen Doppelbindungen die Vitamine mit einem offenen System aus 3 konjugierten Doppelbindungen eine nach dem Kurzwelligen verschobene Absorption aufweisen (Provitamin 281 mμ, Vitamin 265 mμ). Das Vitamin $D_2$ besitzt noch zwei weitere Bande bei 155 und 205 mμ[48]).

[48]) E. Shelow, Physical. Rev. 45, 126 (1934).

In den üblichen organischen Lösungsmitteln ist das Vitamin leicht löslich, ebenso in Fetten und Ölen. In Wasser ist es unlöslich. Gegen Erhitzen und gegen den Luftsauerstoff ist es relativ beständig. Erst bei vierstündigem Erhitzen auf 180° verliert es seine Wirksamkeit[49]). Die Ursache dafür liegt in einer weiter unten zu besprechenden Umlagerung des Ringgefüges. Eine Lösung des Vitamins in Olivenöl, bei 0° aufbewahrt, verliert nach 3 Jahren etwa die Hälfte seiner Wirksamkeit[50]). Eine Lösung des Vitamins in einer Öl-Wasser-Emulsion verliert nach 3 Wochen fast die Hälfte der Wirksamkeit, nach 6 Wochen vier Fünftel und nach 6 Monaten fast neun Zehntel[51]).

Mit Digitonin gibt das Vitamin $D_2$ — ebensowenig wie die anderen Vitamine D — keine Fällung. Die Addukte mit Maleinsäureanhydrid und Citraconsäureanhydrid bilden sich bei gewöhnlicher Temperatur nur langsam. Gegen Säuren ist es nicht widerstandsfähig; es wird langsam zerstört. Nitrose Gase zerstören, dagegen ist es widerstandsfähig gegen Formaldehyd, schweflige Säure, Schwefelwasserstoff und Wasserstoffsuperoxyd. Ebenfalls beständig ist das Vitamin $D_2$ gegen Alkalien, zum Unterschied vom antirachitischen Vitamin der Winterbutter, das gegen Alkalien sehr empfindlich ist[52]). Im Hochvakuum kann es bei 125° unzersetzt sublimiert werden.

Beim Erhitzen auf 180° bildet sich ein neuer Körper, der nicht wieder in das Vitamin zurückverwandelbar ist. Dieser physiologisch unwirksame Körper ist dem Vitamin isomer. Seine Entstehung beruht auf einer Rückgängigmachung der Ringsprengung zwischen den C-Atomen 9 und 10. Man konnte das Reaktionsprodukt als ein molekulares Gemisch zweier Stoffe definieren: Pyrocalciferol[53]) und Isopyrocalciferol[53]). Ersteres schmilzt bei 94°; $[\alpha]_D^{20} = +512°$. Letzteres schmilzt bei 112—115°; $[\alpha]_D^{20} = +332°$.

Das molekulare Gemisch beider Körper schmilzt bei 122—124°; $[\alpha]_D^{20} = +300°$ (Chloroform). Die Existenz von 4 Ringen und 3 Doppelbindungen konnte nachgewiesen werden. Der Unterschied zwischen diesen

---

[49]) A. Windaus, Dtsch. med. Wschr. **58**, 1669 (1932).

[50]) Bourdillon, Bruce und Webster, Biochem. Journ. **26**, 522 (1932).

[51]) D. H. Shelling, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **35**, 660 (1936).

[52]) Kon und Booth, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 420 (1933); Biochem. J. **27**, 1302 (1933).

[53]) P. Busse, Z. physiol. Chem. **214**, 211 (1933); Askew, Bruce und Mitarb., Nature **128**, 758 (1931).

thermischen Reaktionsprodukten und dem Ergosterin bzw. Lumisterin besteht in der verschiedenen räumlichen Anordnung am C-Atom 9[54]).

In der folgenden Tabelle 1 sind die wichtigsten Derivate des Vitamin $D_2$ mit ihren Konstanten angegeben:

Tabelle 1

| | Schmp. | $[\alpha]_D$ |
|---|---|---|
| Allophanat | 194—95° | + 50,4° (Chlorof.) |
| Anissäure-ester | 100° | + 120° |
| 3.5-Dinitro-benzoesäure-ester | 147° | + 55° (Benzol) |
| 3.5-Dinitro-4-methyl-benzoesäure-ester | 115° | + 91° (Aceton) |
| Phenylurethan | 122° | + 49,2° |
| β-Naphthoesäure-ester | 132° | + 150° (Chlorof.) |
| Dihydrovitamin $D_2$ I | 65° | — |
| „ II, m-Dinitro-benzoesäure-ester | 164—165° | + 138° |
| Perhydro-vitamin $D_2$ | 211° | + 37,6° (Chlorof.) |

Farbreaktionen: Eine Reaktion, die neben der Messung der Lichtabsorption bei 265 mμ zur qualitativen und quantitativen Vitamin D-Bestimmung benützt werden kann und die für alle D-Vitamine gleich charakteristisch ist, ist die von H. Brockmann und Y. C. Chen[55]) eingeführte kolorimetrische Messung der Färbung einer Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform. Die Vitamine geben mit diesem Reagens eine orangegelbe Farbe, mit einer Absorptionsbande bei 500 mμ. Vitamin A oder Sterine stören dabei nicht. Die Autoren empfehlen folgende Arbeitsweise: Man löst 0,04 bis 0,4 mg des Vitamins in 0,2 ccm trockenem Chloroform und fügt 4 ccm einer gesättigten Lösung von $SbCl_3$ in trockenem Chloroform zu. Nach 10 Minuten wird die Messung mit dem Spektrophotometer oder mit dem Kolorimeter ausgeführt. Die zu prüfende Substanz muß frei von Alkohol sein.

W. Halden und H. Tzoni[56]) schlagen folgende Methode vor: Zu einer Chloroformlösung (auch Benzol oder Petroläther) des Vitamins fügt man 5—10 Tropfen einer 0,1proz. Pyrogallussäurelösung in Alkohol und dampft am Wasserbad bis auf einige ccm ein. Man fügt hierauf einige Tropfen einer 10proz. Lösung von Aluminiumchlorid in absolutem Alkohol zu. Diese Lösung muß ganz frisch bereitet sein. Man erhitzt wieder am Wasserbad, bis nach etwa 4 Minuten eine dunkelviolette Farbe auftritt. Man kann mit dieser Reaktion noch 0,002 mg Vitamin $D_2$

[54]) K. Dimroth, Ber. **70**, 376, 1631 (1937).

[55]) Z. physiol. Chem. **241**, 129 (1936).

[56]) Nature **137**, 909 (1936); Naturwiss., **24**, 296 (1936); Biochem. Ztschr. **287**, 18 (1936).

nachweisen. Ölige Lösungen des Vitamins müssen vorher vollkommen verseift sein. Die quantitative Bestimmung kann mit Hilfe eines Kolorimeters erfolgen. Cholesterin, Ergosterin und Lumisterin geben keine Färbung. Die Suprasterine geben eine im Vergleich mit Vitamin $D_2$ bedeutend schwächere Färbung.

Mit Trichloressigsäure gibt das Vitamin $D_2$ eine tiefgelbe, in schmutzig-rotbraun übergehende Farbe. Die Reaktion nach Tortelli-Jaffé zeigt eine blaue Farbe, zum Unterschied von der mit Ergosterin, die grün ist.

Die wichtigsten Eigenschaften des Vitamins $D_2$ und seines Provitamins Ergosterin sind in der Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2

| | Ergosterin | Vitamin $D_2$ |
|---|---|---|
| Schmelzpunkt . . . . . | 163° | 115—117° |
| Absorptionsmaximum . . | 281 mμ | 265 mμ |
| $[\alpha]_D$ Äther . . . . . | — 94,0° | + 88,7° |
| Chloroform . . . | — 125,2° | + 52,25° |
| Benzol . . . . . | — 125,8° | + 87,5° |
| Alkohol . . . . . | — 93,0° | + 106,2° |
| Aceton . . . . . | — 92,0° | + 83,5° |
| Fällbarkeit mit Digitonin . | ja | nein |
| Antirachitische Wirksamkeit | — | sehr stark |
| Farbreaktionen: | | |
| Nach Brockmann-Chen . . | rot → blau | orangegelb |
| Trichloressigsäure . . . . | rot → blau | tiefgelb-schmutzigrotbraun |
| Nach Halden-Tzoni . . . | — | tiefviolett |
| Nach Tortelli-Jaffé . . . | grun | blau |

Wirksamkeit und Standard: Keines der bekannten D-Vitamine besitzt eine so intensive antirachitische Wirkung wie das Vitamin $D_2$. Die Wirkung kleinster Mengen bedingt eine gewisse Vorsicht in der Dosierung, denn eine Überdosierung ist für den Organismus außerordentlich schädlich. Man bezeichnet die Krankheitserscheinungen, die bei solchen übergroßen Gaben auftreten, als Hypervitaminosen D. Die Krankheitserscheinungen sind: verminderter Appetit, Sinken des Gewichtes, Diarrhöe und Verkalkung gesunden Gewebes, wobei zum Teil der Kalk den Knochen entzogen wird. Die Grenzdosis, bei welcher Hypervitaminosen D auftreten, liegt bei der etwa 200fachen normalen Dosis.

Noch giftiger als das reine Vitamin $D_2$ sind die anderen Bestrahlungsprodukte, von denen besonders das Toxisterin dreimal giftiger ist als das Vitamin.

Zur physiologischen Wertbestimmung sind verschiedene Methoden ausgearbeitet worden. Als Versuchstiere dienen junge, auf rachitogene Kost gesetzte Ratten. Zur exakten Diagnosestellung dient das Röntgenbild oder die Analyse des Mineralgehalts der Knochen. Sehr benützt wird die von McCollum eingeführte Methode, bei welcher der Heilungsgrad an der Dicke der an der Epiphysenlinie der Knochen frisch abgelagerten Calciumphosphatschicht sichtbar gemacht wird[57]). Zur Versuchskontrolle bedient man sich einer eingestellten Standardlösung, für deren Herstellung die Vitaminkonferenz des Völkerbundes besondere Vorschriften erlassen hat. Die Wirksamkeit von 1 mg dieser Standardlösung bezeichnet man als die Internationale Vitamin D-Einheit. Dieser internationale Standard wird so hergestellt, daß eine 0,1proz. Lösung von Ergosterin in absolutem Alkohol 30 Minuten in rotierendem Quarzrohr mit Quecksilberdampflicht aus 15 cm Abstand bestrahlt und der Alkohol bei 45° im Vakuum verdampft wird. Eine 0,01proz. Lösung des Rückstands in Olivenöl ist das Vitamin D-Standard-Präparat. Eine Einheit ist also 0,0001 mg = 0,1 $\gamma$ des verwendeten Ergosterins. Die sog. Steenbock-Einheit kommt 2,7 I.E. (internationalen Einheiten) gleich. Eine prophylaktische Einheit entspricht 0,38 I.E. Eine Klinische Einheit = etwa 15 I.E.

Die Internationale Einheit wird auch M. R. C.-Einheit genannt (Medical Research Council-Einheit).

Da 1 I.E. genau 0,025 $\gamma$ Vitamin $D_2$ entspricht, hat das Vitamin eine Schutzwirkung von rund 40 000 Einheiten. Im Schutzversuch an der Ratte sind Tagesdosen von 0,000 02 mg noch mit Sicherheit wirksam[58]). Der Bedarf der Kinder beträgt etwa 1 Klinische Einheit pro Tag, jedoch sind zur Heilung einer bestehenden Rachitis 5 klinische Einheiten pro Tag notwendig.

Darstellung: Die Herstellung des Vitamins $D_2$ für wissenschaftliche Zwecke erfolgt am besten nach der von A. Windaus[59]) beschriebenen Methode:

25 g reinstes, aus Benzol-Alkohol umkrystallisiertes und im Vakuum bei 80° getrocknetes Ergosterin werden in 500 ccm Benzol (Kahlbaum, zur Mol.-Gew.-Bestimmung) gelöst und in einer rotierenden Quarzwalze

---

57) Bills und Mitarb., J. Biol. Chem. **90**, 619 (1931).

58) A. Windaus und Mitarb., Annal. **492**, 226 (1932).

59) A. Windaus, O. Linsert, A. Lüttringhaus und G. Weidlich, Annal. **492**, 226 (1932).

12 Stunden lang mit dem Gesamtlicht des Magnesiumfunkens bestrahlt. Die Lampe wird mit einem Wechselstrom von 260 Volt gespeist, der auf 10 000 Volt umgeformt wird. Die Stromstärke des Primärstromes beträgt 4 Amp. Ein kontinuierlicher Luftstrom innerhalb der Lampe sorgt für ausreichende Kühlung.

Nach 12 Stunden sind 60% des Ergosterins umgewandelt. Während der folgenden Reinigungsoperationen muß der Zutritt von Luft sorgfältig verhindert werden, was durch Verwendung einer Spezialapparatur erreicht wird. Die bestrahlte Lösung wird bei 30—40° im Vakuum eingeengt und der Rückstand mit 500 ccm Methylalkohol (der unter Durchleiten von Kohlendioxyd ausgekocht wurde) bei 35—40° digeriert. Die Lösung wird auf — 10° abgekühlt und das ausgefallene Ergosterin abfiltriert. Der Niederschlag wird mit wie oben behandeltem Methylalkohol unter Luftabschluß gewaschen und das Filtrat einschließlich der Waschflüssigkeit mit einer alkoholischen Lösung von 3 g Digitonin versetzt. Hierauf wird im Vakuum bei 35° zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand wird mit 650 ccm niedrig siedendem Petroläther 12 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Das unlösliche Ergosterindigitonid und das überschüssige Digitonin wird durch Filtration entfernt und mit Petroläther ausgewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum auf 50 ccm eingedampft.

Man versetzt diese Lösung in einem Rohr mit 7,5 g Citraconsäureanhydrid in absolutem, peroxydfreien Äther. Die Lösung muß klar sein. Das Rohr wird zugeschmolzen und 7 Tage bei Zimmertemperatur aufgehoben. Nach dieser Zeit wird das Rohr geöffnet und der Inhalt im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird in 120 ccm 10proz. methylalkoholischer Kalilauge bei 35° gelöst. Die Lösung wird sofort abgekühlt und zur vollständigen Verseifung 12 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die alkalische Lösung wird mit dem 4fachen Volumen ausgekochtem Wasser versetzt und dreimal mit viel Petroläther ausgeschüttelt. Das Vitamin findet sich im Petroläther. Er wird mit ausgekochtem Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wird in wenig siedendem Aceton gelöst und die Lösung im Eisschrank der Krystallisation überlassen. Kann man mit einem Krystall Vitamin $D_2$ impfen, erhält man sehr schnell die gewünschte Krystallbildung; anderenfalls dauert sie mehrere Tage. Man kühlt auf — 20° ab und saugt die Krystalle auf einer gekühlten Nutsche ab. Man wäscht die Krystalle mit auf — 20° abgekühltem Aceton nach, dann mit

Mischungen von Aceton-Methylalkohol und zuletzt mit Methylalkohol allein, jedoch immer bei — 20°. Die Ausbeute beträgt etwa 5 g.

Askew[60]) und Mitarbeiter bedienen sich bei der Bestrahlung einer Quecksiberdampflampe, deren Licht durch eine Xylol-Alkoholschicht filtriert wird. Die Lösung des Ergosterins zirkuliert in einer Quarzspirale um die Lampe selbst. Nach der Entfernung des unverwandelten Ergosterins mit Digitonin und der Verdampfung des Äthers nimmt man den Rückstand mit wasserfreiem Pyridin auf und fügt 3.5-Dinitro-benzoylchorid zu. Man erhält das Vitamin $D_2$ als 3.5-Dinitro-benzoesäure-ester: Schmp. 147°; $[\alpha]_D^{18} = +103{,}7°$.

Bestrahlt man zu lange, so wird hauptsächlich Toxisterin und die Suprasterine gebildet, man schlug deshalb 7 Stunden als ausreichende Bestrahlungszeit vor[61]).

## 2. Das Vitamin $D_3$

Während man lange Zeit das natürliche Vitamin D für identisch hielt mit dem künstlichen Vitamin $D_2$, stieß man auf wichtige Unterschiede in der biologischen Wirksamkeit zwischen dem in der Natur vorkommenden Vitamin und dem durch Bestrahlung von Ergosterin gewonnenen Vitamin. Die genaue Auswertung dieser Beobachtungen wurde erst möglich, als man gelernt hatte, das natürliche Vitamin D aus seinen Ausgangsmaterialien so anzureichern, daß man es in krystallisierter Form darstellen konnte. Es erwies sich, daß bei weitgehendster chemischer und physikalischer Übereinstimmung dennoch grundlegende Unterschiede in der antirachitischen Wirksamkeit bestanden.

Das Vitamin $D_2$ erwies sich gegen die Rachitis der Kücken viel weniger aktiv als das natürliche Vitamin D, trotzdem beide gegen die Rachitis der Ratten vollkommen gleich aktiv sind[62]).

Bei Untersuchungen über die Bedeutung der Struktur der aliphatischen Seitenkette für die Vitamin D-Eigenschaften gelang es A. Windaus[63]) und seinen Mitarbeitern, aus 7-Dehydro-cholesterin durch Bestrahlung einen Körper zu erhalten, der antirachitisch wirksam war. Die

[60]) Askew, Bourdillon und Mitarb., Proc. Roy. Soc. London (B) **109**, 488 (1931).

[61]) L. Francesconi und F. Opisso, Annal. chim. applicata **25**, 124, 136 (1935).

[62]) H. Steenbock, S. W. F. Kletzien und J. G. Halpin, J. biol. Chem. **97**, 249 (1932).

[63]) A. Windaus, Fr. Schenck und F. v. Werder, Z. physiol. Chem. **241**, 100 (1936).

Prüfung an rachitischen Kücken ergab, daß der neue Körper die gleiche Wirksamkeit besaß wie das aus Lebertran isolierte Vitamin D[64]. Zur gleichen Zeit gelang H. Brockmann[65] die Darstellung krystallisierten Vitamins D aus den Leberölen von Thunfischen, das er Vitamin $D_3$ nannte. Die vergleichende Prüfung dieses Vitamins und des bestrahlten 7-Dehydro-cholesterins ergab vollkommene Übereinstimmung der chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften. Das natürliche Vitamin ist also im Gegensatz zum künstlichen Vitamin $D_2$ ein Abkömmling des Cholesterins.

Vorkommen: Vitamin $D_3$ ist bisher das einzige D-Vitamin, das in der Natur gefunden wurde. Es kommt hauptsächlich in den Lebertranen der Fische vor, findet sich aber auch in deren Fettgeweben ziemlich reichlich. In geringen Mengen kommt Vitamin $D_3$ vor in anderen tierischen Fetten, wie Eierölen und Butter. Walfischtran und Kalbsfett sind frei davon. In frischen Pilzen sind geringe Mengen vorhanden. Auch Reisschalen, Palmöl, Mutterkorn und Tomaten können sehr geringe Mengen enthalten. Das Vitamin ist im allgemeinen recht weit in der Natur verbreitet, doch sind in den meisten Fällen die vorhandenen Mengen so gering, daß sie für die menschliche Ernährung keine Rolle spielen. Gemüse und alle Arten von grünen Pflanzen enthalten außerordentlich geringe Mengen. Die besten Quellen sind immer noch die Leberöle von Fischen. Da der Lebertran außerdem stets noch bedeutende Mengen von Vitamin A enthält, bildet er selbst oder Konzentrate, die noch beide Vitamine enthalten, die beste Quelle für das Vitamin D. Dabei besteht allerdings heute die Möglichkeit der synthetischen Herstellung aus 7-Dehydro-cholesterin.

Der Gehalt der Butter und Milch an dem Vitamin $D_3$ ist stark von der Jahreszeit abhängig. Im Sommer ist der Gehalt größer als im Winter, was auf eine Wirkung der Sonnenstrahlen entweder auf die Nahrung der Milchtiere oder auf die Milchtiere selbst schließen läßt. Gute Milch soll im Sommer im Liter etwa 1 $\gamma$ Vitamin D enthalten. Butter enthält entsprechend mehr. Eigelb kann bis zu 0,2 mg im Kilogramm enthalten.

Die Leberöle der Fische sind bedeutend reicher an dem Vitamin. So enthält das Öl des Heilbutts (Hippoglossus) im Kilogramm 200 mg. Lebertran vom Dorsch, der gewöhnliche medizinische Lebertran, enthält etwa 4 mg Vitamin $D_3$. Am reichsten ist der Tran des

[64]) J. Waddell, J. biol. Chem. **105**, 711 (1934).

[65]) H. Brockmann, Z. physiol. Chem. **241**, 104 (1936); **245**, 96 (1937).

Thunfisches (Thunnus thynnus), nämlich 1 g Vitamin $D_3$ pro Kilogramm Tran, das sind 40 000 I.E.

Konstitution: Die chemische Zusammensetzung des reinen Vitamin $D_3$ entspricht der Bruttoformel $C_{27}H_{43}OH$. Die Konstitution geht aus der Synthese aus 7-Dehydro-cholesterin hervor, da die Verhältnisse bei der Bestrahlung genau die gleichen sein müssen wie bei der Bestrahlung des Ergosterins. Das Vitamin $D_3$ unterscheidet sich daher vom Vitamin $D_2$ durch die aliphatische Seitenkette, die bei $D_3$ der des Cholesterins entspricht. Demnach enthält das Vitamin $D_3$ nur drei Doppelbindungen.

Die Formel des Vitamins $D_3$ konnte durch Abbauversuche bewiesen werden[66]. Es ist in seinem Ringgefüge vollkommen analog dem Vitamin $D_2$ aufgebaut, besitzt jedoch eine dem Cholesterin entsprechende Seitenkette, also eine $CH_3$-Gruppe und eine Doppelbindung weniger in der Seitenkette als in der des Vitamin $D_2$

Die Doppelbindung in der Seitenkette ist für die antirachitische Wirksamkeit nicht unbedingt notwendig. Dagegen scheint eine Beziehung zu bestehen zwischen einer gesättigten und ungesättigten Seitenkette einerseits und der physiologischen Wirksamkeit gegen Ratten- oder Kückenrachitis[62] [67]. Die Tabelle 3 verzeichnet die Wirksamkeit der bekannten D-Vitamine gegen diese beiden Formen der Rachitis.

Das Bestehen der Cholesterin-Seitenkette konnte auch durch Ozon-

[66] A. Windaus, Deppe und Wunderlich, Annal. **533**, 118 (1938).

[67] Schenck, Naturwiss. **1937**, 159; O. N. Massengale und M. Nußmeier, J. biol. Chem. **87**, 415, 423 (1930); A. L. Bacharach, Nature **138**, 387 (1936); A. Windaus, Nachr. Ges. Wiss., Göttingen **1936**, 175; W. Grab, Z. physiol. Chem. **243**, 63 (1936); W. Wunderlich, Z. physiol. Chem. **241**, 116 (1936); O. Linsert, Z. physiol. Chem. **241**, 125 (1936).

Tabelle 3[67])

| Vitamin | Relative Wirksamkeit gegen Rattenrachitis | Relative Wirksamkeit gegen Kückenrachitis |
|---|---|---|
| $D_2$ | 1 000 | 1 000 |
| $D_3$ | 1 000 | 25 000 |
| $D_4$ | 100 | 2 000 |
| $D_5$ | 35 | — |
| $D_6$ | fraglich | — |

abbau des Vitamins $D_3$ bewiesen werden und zwar durch Isolierung eines Ketons $C_{18}H_{32}O$[68]):

Ozonabbau →

Eigenschaften: Vitamin $D_3$ unterscheidet sich kaum in seinen Merkmalen vom Vitamin $D_2$. Es besitzt dasselbe Absorptionsmaximum bei 265 m$\mu$. Es wird mit Digitonin nicht gefällt. Die Farbreaktionen sind die gleichen wie beim Vitamin $D_2$. Die für Mäuse toxische Dosis beträgt 150 $\gamma$.

Das Vitamin krystallisiert gut und schmilzt bei 82—84°; $[\alpha]_D^{20}$ $= +83{,}3°$ (Aceton). Von den gut krystallisierenden Estern seien einige erwähnt, die zur Reindarstellung des Vitamins besonders aus Leberölen

[68]) A. Windaus und G. Trautmann, Z. physiol. Chem. **247**, 185 (1937); A. Windaus und Langer, Annal. **508**, 105 (1933).

dienen: 3.5-Dinitro-benzoesäure-ester: Schmp. 128—129°; $[\alpha]_D^{20} = +100^0$ (Chloroform). Allophanat: Schmp. 173°[68])[65])[67]).

Die Löslichkeitsverhältnisse sind die gleichen wie bei Vitamin $D_2$. Dagegen besitzt das Vitamin $D_3$ eine größere Veresterungsgeschwindigkeit mit Phthalsäure als das künstliche Vitamin $D_2$. Die Ester liefern nach der Verseifung die ursprünglichen Vitamine mit unveränderter biologischer Wirksamkeit zurück. Das Verhalten gegen Säuren und Alkalien deckt sich mit dem des Vitamins $D_2$, ebenso die Beständigkeit gegen Temperaturen bis 180° und die Resistenz gegen den Luftsauerstoff, die bei vollkommen reinen Substanzen sehr groß ist, aber bei verunreinigten Stoffen ziemlich niedrig ist.

Darstellung: Die Reindarstellung des krystallisierten Vitamins $D_3$ gelang zuerst H. Brockmann[65]) aus dem Unverseifbaren des Thunfischlebertranes, indem er das Unverseifbare zwischen 90- bzw. 95proz. Methanol und Benzin verteilte, wobei das Vitamin $D_3$ einmal epiphasisches, das andere Mal hypophasisches Verhalten zeigt und das A-Vitamin weitgehend vom Vitamin $D_3$ abgetrennt wird.

Das Vitamin D geht in die Benzolschicht, das Vitamin A in die Methanolschicht. Bei der zweiten Trennung mit 95proz. Methanol und Benzin geht das Vitamin $D_3$ in die Methanolschicht, während sich das Vitamin A in der Benzinschicht anreichert. Man erhält auf diese Weise einen vierfach angereicherten Extrakt des Vitamins. Darauf erfolgt Reinigung durch Adsorption an Aluminiumhydroxyd in folgender Weise:

1. Adsorption (Voradsorption): Je 20 Gramm des Extraktes werden in 500 ccm Benzol-Benzin (1 : 4) gelöst und durch eine Säule Aluminiumhydroxyd III filtriert, worauf mit 1200 ccm Lösungsmittel nachgewaschen wird. Im Filtrat 5,8 g Öl.

2. Adsorption: Je 10 Gramm dieses Präparates werden zusammen mit 100 mg Indikatorrot 33 in 600 ccm Benzol-Benzin (1 : 4) aufgenommen und durch eine Aluminiumhydroxyd-III-Säule filtriert. Beim Nachwaschen mit 3 l Lösungsmittel entsteht das folgende Bild:

Oben: hellgelb rosa rot, enthält 2,9 g Öl.
Unten: bräunlichgelb.

3. Adsorption: Die 2,9 g Öl werden in 200 ccm obiger Benzol-Benzin-Mischung gelöst, von auskrystallisiertem Indikatorrot abfiltriert und wieder durch eine Säule von Aluminiumhydroxyd III filtriert. Nach dem Waschen mit 1,5 l Lösungsmittel entstanden drei Zonen:

Oben: hellgelb rot, enthält 0,9 g Öl.
Unten: gelb.

Dieses Endprodukt (rotes Öl) enthält etwa 30% Vitamin und zeigt eine Wirksamkeit von 5500 I.E. Nach Entfernung des Cholesterins wird mit 3,5-Dinitro-benzoylchlorid verestert und das Estergemisch wieder aus Benzol-Benzin (1 : 4) an Aluminiumhydroxyd III chromatographiert. Nach dem Nachwaschen mit dem Lösungsmittelgemisch sind vier Zonen vorhanden, deren unterste fast reinen Vitamin-$D_3$-Ester enthält, der aus Aceton-Methanol umkrystallisiert wird. Schmp. 128°. Die Verseifung ergibt reines Vitamin $D_3$.

Die synthetische Darstellung aus 7-Dehydro-cholesterin erfolgt nach der Methode von A. Windaus und Mitarbeitern[63]:

Man löst 6,3 g des Provitamins in Benzol und bestrahlt $3^3/_4$ Stunden in einer Quarzwalze mit dem Gesamtlicht des Magnesiumfunkens. Die Lösung wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit 60 ccm Alkohol aufgenommen und eine kochende Lösung von 8 g Digitonin in 120 ccm Alkohol zugefügt. Das Ganze wird zur Trockne eingedampft und der Rückstand mehrere Male mit siedendem Petroläther ausgezogen. Die Lösung wird eingedampft. Der Rückstand wird in 15 ccm Petroläther gelöst, 2 ccm Citraconsäureanhydrid und etwas Äther zugegeben und die klare Lösung 6 Tage bei 20° aufbewahrt.

Hierauf fügt man 40 ccm einer 10proz. Lösung von Kaliumhydroxyd in Methanol zu und läßt 12 Stunden verseifen. Es wird mit Wasser verdünnt, mit Petroläther ausgeschüttelt, der Petroläther getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es bleibt ein hellgelbes Harz zurück, das in einem Benzol-Benzin-Gemisch (1 : 4) gelöst und durch eine Säule von Aluminiumoxyd adsorbiert wird. Es wird mit Benzol-Methanol eluiert und das reine Vitamin über den 3,5-Dinitro-benzoesäureester dargestellt.

### 3. Die Vitamine $D_4$ bis $D_6$

Das Vitamin $D_4$ unterscheidet sich vom Vitamin $D_2$ nur durch die hydrierte Doppelbindung in der Ergosterinseitenkette[68]). Es wird genau wie die anderen künstlichen Vitamine durch Bestrahlung von 22-Dihydro-ergosterin hergestellt. Die Krystalle schmelzen bei 180°; $[\alpha]_D^{20} = +89{,}3°$ (Aceton). Am Kücken ist es etwas wirksamer als $D_2$, besitzt jedoch nur zwei Drittel der $D_2$- und $D_3$-Wirksamkeit an der Ratte. Das Absorptionsmaximum ist mit 265 m$\mu$ dasselbe wie bei den anderen D-Vitaminen. In der Natur kommt es nicht vor.

Vitamin $D_5$ entsteht durch Bestrahlen von 7-Dehydro-sitosterin[69]).

[69]) W. Wunderlich, Z. physiol. Chem. **241**, 116 (1936).

Vitamin $D_4$

Vitamin $D_5$

Vitamin $D_6$

Es ist 30- bis 40mal weniger wirksam als $D_2$. Ein durch Bestrahlen von 7-Dehydro-stigmasterin gewonnener Körper (Vitamin $D_6$) dürfte als antirachitisch unwirksam bezeichnet werden können, wobei es allerdings anheimgestellt bleiben soll, ob die Wirksamkeit so gering ist,

daß sie außerhalb des Meßbaren liegt oder ob Verunreinigungen oder die Darstellungsart die Schuld an der Inaktivität der bisher dargestellten Präparate haben.

In der Tabelle 4 sind die wichtigsten physikalischen und biologischen Eigenschaften der D-Vitamine zusammengestellt.

Tabelle 4

| Brutto-Formel | Doppel-Bindungen | Provitamin | Vitamin | Schmp. | $[\alpha]_D$ (Aceton) | Abs.-Max. $m\mu$ | Wirksamkeit pro mg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $C_{28}H_{44}O$ | 4 | Ergosterin | $D_2$ | 116 | + 82,6 | 265 | 40 000 |
| $C_{27}H_{44}O$ | 3 | 7-Dehydro-chol. | $D_3$ | 84 | + 83,3 | 265 | 40 000 |
| $C_{28}H_{46}O$ | 3 | 22-Dihydro-erg. | $D_4$ | 108 | + 89,3 | 265 | 4 000 |
| $C_{29}H_{48}O$ | 3 | 7-Dehydro-sito. | $D_5$ | — | — | 265 | 1 300 |
| $C_{29}H_{46}O$ | 4 | 7-Dehydro-stig. | $D_6$ | — | — | 265 | fraglich |

Die Frage nach dem Ursprung der großen Vitamin-D-Mengen in der Leber der Fische und in der Natur überhaupt wurde oft erörtert. Während bei Gemüse, Pilzen usw. infolge der jahreszeitlichen Schwankungen des Gehaltes an antirachitischen Stoffen der Schluß naheliegt, daß das Vitamin unter dem Einfluß des Sonnenlichtes aus dem Provitamin gebildet wird, erscheint der große Gehalt in der Fischleber um so merkwürdiger, als tieflebende Fische, wie z. B. der Dorsch, kaum von den kurzwelligen Strahlen erreicht werden dürften. Bills[70]) glaubt deshalb an eine reine Chemosynthese, während Drummond[71]) annimmt, daß die Fische in außergewöhnlichem Maße die geringen, mit der Nahrung aufgenommenen Vitaminmengen zu speichern vermögen. Dieses Speicherungsvermögen wird durch das Fehlen der Lungenatmung bei Fischen erklärt[72]). Tatsächlich wirkt das Lungengewebe der Ratte auf Vitamin D zerstörend. Verfütterung von Ergosterin an Dorsche erhöhte jedoch den Vitamin-D-Gehalt nicht[73]). Das Vorkommen von Vitamin D in Pflanzen wird dagegen ausschließlich auf die Bestrahlung von Provitamin in der Pflanze zurückzuführen sein. Immerhin läßt sich aber auch für die Tierwelt eine wenn auch in engen Grenzen vorkommende Umwandlung von Provitaminen durch das Sonnenlicht, besonders in der Haut, annehmen.

[70]) J. biol. Chem. **72**, 751 (1927).
[71]) Nature **126**, 398 (1930).
[72]) Coppens und Metz, Biochem. Ztschr. **266**, 169 (1933).
[73]) Heß und Mitarb., Proc. Soc. exp. Biol. Med. **29**, 1227 (1932).

# Technische Darstellung von Vitamin D und Vitamin-D-Präparaten

## 1. Lebertran und Lebertranpräparate

Lebertran. Die fetten Öle der Fischlebern stellen die wichtigste natürliche Quelle der sog. fettlöslichen Vitamine D und A dar. Als Lebertran schlechthin bezeichnete man seit altersher das Leberöl des Dorsches. Es war lange Zeit hindurch das einzige in der Medizin und Technik verwendete Ausgangsmaterial für die Gewinnung antirachitischer Stoffe, jedoch in gleichem Maße auch für die Gewinnung des wichtigen A-Vitamins. Gerade das gemeinsame Vorkommen dieser beiden Vitamine in ein und demselben Material macht den Lebertran zu einem äußerst wertvollen Geschenk der Natur an den Menschen.

Da alle vorbereitenden Operationen zur Gewinnung des Lebertranes und daraus hergestellter Konzentrate die gemeinsame Darstellung beider Vitamine bezwecken, soll in diesem Abschnitt die Darstellung der Leberölgewinnung für beide Vitamine, A und D gemeinsam, geschildert werden. Im Anschluß daran wird in den weiteren Abschnitten die Gewinnung von Vitamin-D-Konzentraten und im Kapitel über das Vitamin A die Gewinnung dieses Vitamins aus Lebertran geschildert werden.

Die fortschreitende Vitaminforschung machte es bald notwendig, auch andere Leberöle auf ihren Gehalt an Vitaminen A und D zu untersuchen. Es ergab sich, daß der Dorschlebertran bei weitem nicht das vitaminreichste Öl ist, sondern daß andere Fische ein viel vitaminreicheres Öl liefern. Den höchsten Gehalt an Vitamin A hat Stereolepis gigas mit 600 000 I.E., den höchsten Gehalt an Vitamin D hat der Blauflossenthunfisch (Thunnus thynnus) mit 60 000 I.E. Letzterer hat auch den höchsten gemeinsamen Vitamingehalt an A und D, nämlich je 60 000 I.E. In der Tabelle 5 sind die für die Trangewinnung wichtigsten Fischarten nach ihrem Vitamingehalt zusammengestellt.

Die frischen Fischlebern müssen, wenn sie nicht sofort auf Öl verarbeitet werden können, dem Einfluß des Luftsauerstoffs und der fermentativen Zersetzung entzogen werden. Man erreicht dies durch Einfrieren der Lebern. Das Engl. Pat. 401 095 empfiehlt eine vorhergehende Behandlung mit Dampf bei 70—80° während 40 Minuten, um Bakterien und Fermente zu vernichten. Man kann auch mit flüssigem Paraffin übersprühen, um die Luft abzuhalten. Der zerstörende Einfluß der Luft erstreckt sich vor allem auf den Gehalt an Vitamin A, das gegen Oxydationen außerordentlich empfindlich ist.

Tabelle 5

| Fischart | Internation. Einheiten | |
|---|---|---|
| | Vitamin A | Vitamin D |
| Blauflossenthunfisch (Thunnus thynnus) . | 60 000 | 60 000 |
| Katsuwonus pelamis . . . . . . . . | 40 000 | 60 000 |
| Schwertfisch . . . . . . . . . . . | 200 000 | 12 000 |
| Sarda chiliensis . . . . . . . . . . | 120 000 | 50 000 |
| Seriola dorsalis . . . . . . . . . . | 50 000 | 17 000 |
| Sebastides marinus . . . . . . . . . | 18 000 | 40 000 |
| Donau-Stör . . . . . . . . . . . . | 16 500 | 8 500 |
| Heilbutt (Atlantischer Ozean) . . . . | 40 000 | 2 000 |
| „ (Stiller Ozean) . . . . . . | 50 000 | 1 200 |
| Stereolepis gigas . . . . . . . . . | 600 000 | 5 200 |
| Pfeilhecht (Sphyraena arganten) . . . | 40 000 | 2 000 |
| Thunfisch (Thunnus vulgaris) . . . . | 140 000 | 600 |
| Dorsch (Kabeljau) . . . . . . . . . | 650 | 1 500 |

Zur Gewinnung des Tranes werden die Lebern mit Dampf behandelt, wobei die Zellen platzen und das austretende Öl sich an der Oberfläche ansammelt. Das Amer. Pat. 1 519 779 beschreibt ein Verfahren, nach dem die gefrorenen Lebern direkt ausgepreßt werden, was zu einem steinarmen, aber vitaminreichen Öl führt.

Das beste und reinste Öl liefert die erste Kaltpressung. Allerdings sind die Ausbeuten geringer. Eine vollkommenere Gewinnung sämtlichen Öles erzielt man durch Extraktion der Lebern mit geeigneten Lösungsmitteln. Man arbeitet mit Mischungen von etwa 20% Alkohol und 80% eines Fettlösungsmittels, wie Benzin, Aceton, Benzol, Tetrachlorkohlenstoff usw. Die Extraktion kann auch mit siedenden Lösungsmitteln durchgeführt werden. Das Amer. Pat. 1 796 027 extrahiert die getrockneten Lebern der Reihe nach mit Aceton, Äther, Chloroform und absol. Alkohol. Dabei wird eine fraktionierte Extraktion verschiedener Inhaltstoffe der Lebern, wie Lipoide usw. erzielt.

Die frischen Leberöle müssen unter sorgfältigem Abschluß von Luftsauerstoff aufbewahrt werden. Man füllt sie zweckmäßig in Gefäße, die bis oben mit dem Öl gefüllt sind, worauf man etwas Öl abgießt und den leeren Raum mit Stickstoff oder Kohlensäure füllt (Norweg. Pat. 41 744 und Engl. Pat. 214 238). Am besten ist es, alle Operationen unter Ausschluß von Luft auzuführen, was durch Verwendung besonderer Apparaturen erreicht wird. Man hat mit Erfolg versucht, die Oxydation der empfindlichen Vitamine durch Zusatz von Antioxydantien zu verhindern, die an sich als Sauerstoffakzeptoren wirken, ohne den Sauerstoff wieder an die Vitamine abzugeben. Solche Stoffe sind

besonders verschiedene Phenole wie Pyrogallol, Brenzkatechin usw. Als am besten geeignet hat sich Hydrochinon erwiesen. Die Verwendung solcher Stoffe ist durch verschiedene Patente geschützt (Schweiz. Pat. 148 479, Amer. Pat. 1 879 762, 1 947 432, 2 051 257).

Vitaminkonzentrate aus Lebertran. Der unangenehme Geschmack der Leberöle, der sich besonders bei Kindern störend bemerkbar macht, ließ es als naheliegend erscheinen, die Leberöle, deren Vitamingehalt oft genug sehr schwankend ist, so zu verarbeiten, daß Konzentrate mit möglichst gleichbleibendem Vitamingehalt erzielt werden.

Da die Vitamine A und D unter bestimmten Bedingungen alkalibeständig sind, ist es möglich, die großen Mengen an fetten Ölen, die weitaus den Hauptbestandteil der Lebertrane bilden, durch Verseifung zu entfernen. Die Vitamine lassen sich aus den Seifen durch Lipoidlösungsmittel extrahieren.

Die Verseifung muß bei Zimmertemperatur oder nur wenig darüber durchgeführt werden. Die Empfindlichkeit des Vitamins A erfordert außerdem die Durchführung der Verseifung in Stickstoffatmosphäre. Die unerwünschte Volumvermehrung bei der Verseifung sowie die Notwendigkeit, große Mengen teurer Lösungsmittel anwenden zu müssen und die Dauer der Kaltverseifung abzukürzen, haben zu einer Reihe von patentierten Verfahren geführt, die die Verseifung ohne Gefährdung der Vitamine vereinfachen. Als beste Methode hat sich die Verseifung mit Alkali in alkoholischer Lösung erwiesen. Jedoch auch Aceton wird verwendet (Amer. Pat. 1 879 734). Letzteres hat den Vorteil, daß die Verseifung bei Zimmertemperatur glatt und schnell verläuft, die Natronseifen in Aceton unlöslich sind und vom Filtrat, welches die Vitamine enthält, gut abgepreßt werden können. Abdestillieren des Acetons liefert das Unverseifbare.

Das Franz. Pat. 767 191 verseift Lebertran bei 60° während 40 Minuten mit 0,84 Volumen 95proz. Alkohol, 0,1 Vol. Wasser und 0,25 Gewichtsteilen KOH oder NaOH. Die Akoholkonzentration soll etwa 50% betragen. Methylalkohol kann ebenfalls verwendet werden.

An Stelle der Leberöle können auch die Fischlebern direkt verseift werden. Dabei werden vor allem ziemlich konzentrierte Vitamin-A-Präparate gewonnen. DRP. 634 760 beschreibt ein solches Verfahren:

100 kg Fischleber werden mit 50 kg 50proz. Alkohol und 20 kg KOH unter Rühren und Durchleiten von Stickstoff eine Stunde auf 60° erwärmt. Das Verseifungsprodukt wird dann in 150 kg eisgekühltem 40proz. Alkohol gelöst. Aus der Lösung, die ungefähr 300 kg beträgt, wird mittels Petroläthers (300 kg) das Unverseifbare extrahiert.

Unter den Extraktionsmitteln nehmen Petroläther und Dichloräthylen den ersten Platz ein. Bei beiden sind die Lösungsverluste klein, während sie z. B. bei dem ebenfalls verwendeten Äther ziemlich groß sind. Bei Dichloräthylen sind auch die Destillationsverluste am geringsten. Andere Lösungsmittel sind: Benzol und Äther. DRP. 636 227 beschreibt die Extraktion von Thunfischlebern mit Äther. 1 kg Rohöl wird mit 500 ccm Feinsprit und 3,2 l Wasser, in dem 150 g KOH gelöst sind, eine Stunde bei Zimmertemperatur gut durchgerührt und dann mit Äther extrahiert. Die Ätherextrakte werden auf etwa 700 ccm eingedampft, der Rest mit Wasser ausgewaschen und dann der Rest des Äthers im Vakuum verdampft. Man erhält so einen dreifach angereicherten Extrakt.

Man kann die Vitaminlösungsmittel schon vor der Verseifung dem Öl zusetzen. Dabei kann man, wenn die Verseifung in wäßriger Lösung geschah, als Extraktionsmittel Pentan, Hexan, Dimethylbutan, Dimethylhexan, Cyclohexan und Methylcyclohexan verwenden (Amer. Pat. 1 947 315). Verseift man in alkoholischer Lösung, dann kann man außer den üblichen Lösungsmitteln auch noch Dichloräthyläther verwenden (Amer. Pat. 1 919 369).

Das Engl. Pat. 361 343 schlägt vor, in die gekühlte alkoholische Seifenlösung von unten her dampfförmiges Benzol einzublasen. Das Benzol kondensiert sich in der Flüssigkeit zu feinen Tröpfchen, die nach oben steigend die Vitamine aufnehmen und sich an der Oberfläche sammeln.

Um die Verseifung zu vermeiden, kann man auch die Öle selbst mit geeigneten Lösungsmitteln extrahieren. Mit 95proz. Alkohol kann man fast die gesamten Vitamine entziehen, wobei aber auch die Sterine und Phosphatide sowie ein gewisser Prozentsatz Neutralfett mit extrahiert werden. Alle Operationen müssen unter Luftabschluß und bei niedrigen Temperaturen durchgeführt werden.

Das DRP. 560 146 läßt das Öl in dünnem Strahl in das fünffache Volumen heißen, 96proz. Alkohols einfließen und dann das Gemenge zur Abscheidung der ungelösten Anteile über Nacht stehen. Nach DRP. 484 993 wird so verfahren, daß man 80 Liter Lebertran in einem Mischbehälter mit 40 l 95proz. Alkohol versetzt und die Mischung 2 Stunden umrührt. Man läßt abscheiden und hebt den oben schwimmenden alkoholischen Anteil ab. Der ganze Vorgang wird dreimal mit je 20 l Alkohol wiederholt.

Das DRP. 568 901 beschreibt ein Verfahren, das eine sehr große Konzentration erreicht und fast geruchfreie Extrakte liefert: 30 kg Lebertran werden mit Alkohol extrahiert und der Extrakt mit alkohol.

Kalilauge verseift. Die Seife wird mit Äther extrahiert und der Äther unter Stickstoff abdestilliert. Es bleibt ein öliger Rückstand im Gewichte von 80 g. Er wird in 500 ccm Petroläther gelöst und diese Lösung mit 90proz. Alkohol wiederholt ausgeschüttelt, bis die alkoholische Schicht nur noch schwach gefärbt ist. Man verwendet nicht mehr als jedesmal 50 ccm Alkohol. Nach dem Abdampfen im Vakuum unter Stickstoff hinterbleibt ein geruchloses Öl (6 g).

Statt Alkohol kann man nach D R P. 540 701 auch Eisessig verwenden. Man verwendet 95proz. Eisessig und zieht 24 Stunden aus. Dabei lassen sich die beiden Vitamine A und D so trennen, daß man aus der Eisessiglösung mit Petroläther das Vitamin A ausziehen kann, während das Vitamin D im Eisessig gelöst bleibt.

Das Belg. Pat. 403 099 schlägt Gemische von Alkoholen vor (Äthylalkohol und Propylalkohol). Das D R P. 492 281 schützt die Verwendung von saurem Alkohol ($p_H = 5$) bei 50° zur Extraktion der Lebertrane.

Destillation im Hochvakuum von $10^{-2}$ bis $10^{-6}$ mm Hg ist ebenfalls zur Anreicherung der Vitamine in Ölen vorgeschlagen worden. Der Weg von der Verdampfungs- zur Kondensationsfläche soll dabei möglichst kurz sein, nur wenige Millimeter. Zur Vermeidung von Oxydationen können Sauerstoffakzeptoren (Hydrochinon usw.) zugesetzt werden. Die Temperatur soll sehr rasch 160° erreichen. Um durch fraktionierte Destillation die einzelnen Vitamine zu trennen, sollen organische Stoffe mitdestilliert werden, deren Siedepunkte etwas niedriger liegen als der des betreffenden Vitamins. Zur Trennung von A und D ist Tripelargonin geeignet (Amer. Pat. 1 925 559; Austr. Pat. 20 902/35; Engl. Pat. 452 442, 464 395, 476 134; Franz. Pat. 812 734; Holl. Pat. 37 435).

Lebertranpräparate. Emulsionen: Um den unangenehmen Geschmack der Lebertrane zu überdecken, kommen gewisse Zubereitungen der Öle mit anderen Stoffen und Emulgatoren in den Handel. Es gibt eine große Anzahl solcher Verfahren, die aber alle den Nachteil haben, daß die Vitamine durch die unvermeidliche Verdünnung eine nur geringe Konzentration aufweisen. Im allgemeinen enthalten die Lebertranemulsionen rund 40% Lebertran. Als Zusatzstoffe, die den Geschmack korrigieren sollen, verwendet man: Calciumsaccharat, Akaziengummi, Traganth, Gummiarabikum, Karraghenmoosabkochungen usw.

Es gelingt nie ganz, den Trangeschmack zu verdecken. Dazu kommt das auf Seite 39 Gesagte, daß nämlich der Gehalt an Vitamin D in den Emulsionen ganz beachtlich mit der Zeit abnimmt. Man kann deshalb

oxydationsverhindernde Stoffe zusetzen. Es ist auch versucht worden, den Vitamingehalt durch Zusatz von künstlichem Vitamin $D_2$ zu erhöhen. In der letzten Zeit ist es gelungen, durch Verwendung besonders vitaminreicher Trane, wie denen des Thunfisches oder des Heilbutts, die an und für sich bei richtiger Herstellung fast geschmacklos sind, hochwertige Emulsionen herzustellen, die durch Zusatz von Malzextrakt oder Hefeextrakt sowie Orangenkonzentraten und Hagebuttenkonzentraten auch noch die Vitamine B und C enthalten. Diese Präparate sind außerdem sehr wohlschmeckend.

Andere Präparate aus Lebertran: Genügend konzentrierte Lebertranextrakte (aber auch nur diese) können in Pillenform gebracht werden, indem man die Extrakte mit Schokolade oder Zuckerguß überzieht. Neu sind Kombinationen von Lebertranextrakt und Hefe (Bierhefe) oder Hefeextrakten, die in feste Form gebracht werden können und mit einem Zucker- oder Schokoladeüberzug von Kindern gerne genommen werden. Sie enthalten, falls richtig zubereitet, den Vitamin-D- und -A-Gehalt der Leberöle mit dem Gehalt an Vitaminen B und den anderen biologisch wichtigen Inhaltstoffen der entbitterten Bierhefe.

Erwähnt seien noch die Lebertransalben und Cremes, die zur Hautpflege dienen. Die Behandlung von Brandwunden mit Lebertransalbe ist bekannt. Für diese Salbenbereitungen soll jedoch zweckmäßig nur Lebertran selbst verwendet werden, denn bei der Heilwirkung spielen gewisse ungesättigte Fettsäuren des Tranes eine Rolle.

## 2. Die Technik der U.-V.-Bestrahlung

Lichtquellen: Man verwendet heute fast ausschließlich die Quecksilberdampflampen, wie sie von der Quarzlampen-Gesellschaft Hanau hergestellt werden. Die Apparate werden für kontinuierlichen Betrieb als Durchlaufapparate gebaut und sind unter bester Ausnützung der Strahlungsintensität für Lösungen und Flüssigkeiten sehr geeignet. Die Flüssigkeit durchfließt unter Wirbelbildung, was eine dauernde Durchmischung garantiert, einen ringförmigen Hohlraum, dessen äußere Wand durch einen Glaszylinder, dessen innere durch ein Quarzrohr gebildet wird. Der freie Raum hat eine Schichtdicke von 25 mm. Der Quarzbrenner befindet sich im inneren Hohlraum.

Sehr gut bewährt haben sich auch die Magnesiumlampen, bei denen zwischen Magnesiumpolen eine Funkenstrecke von 10000 Volt Spannung läuft. Der Bau dieser Bestrahlungsapparatur ist der gleiche wie der für die Quecksilberlampen.

Nach dem *Engl. Pat.* 286 665 sollen auch *gewöhnliche Halbwattlampen* in Verbindung mit geeigneten *Photosensibilisatoren* wie Erythrosin oder Dibromdinitrofluorescein als Lichtquellen genügen. Die Sensibilisatoren werden in der Ergosterinlösung aufgelöst.

Es sind wohl außer diesen drei Lichtquellen noch alle *irgendwiemöglichen Strahlenquellen* durch Patente geschützt worden. Technische oder auch wissenschaftliche Bedeutung haben sie jedoch bisher nicht erlangt. Röntgenstrahlen, $\gamma$-Strahlen, $\alpha$- und $\beta$-Strahlen, hochgespannter Gleich- und hochfrequenter Wechselstrom usw. sind in Patenten der ganzen Welt zur Erzeugung antirachitischer Stoffe aus Ergosterin und anderen Provitaminen vorgeschlagen worden.

Die Verwendung von *Reflektoren*, welche eine größere Ausnutzung der Strahlungsenergie gewährleisten, sind im DRP. 526 141 und im *Amer. Pat.* 1 682 318 geschützt.

*Wellenlängen*: Wirksam bei der Bestrahlung sind sämtliche Strahlenarten des Ergosterin - Absorptions - Spektrums. Man arbeitet zweckmäßig mit Wellenlängen zwischen 270 bis 310 m$\mu$. Das Vitamin tritt sofort bei Beginn der Bestrahlung auf. Die langwelligen Strahlen über 284 m$\mu$ erzeugen hauptsächlich Lumisterin, das zusammen mit Vitamin $D_2$ die Molekülverbindung $D_1$ gibt, welche leicht zerlegt werden kann. Wellenlängen unter 284 m$\mu$ liefern vorwiegend Tachysterin. Besonders die Magnesiumlampen strahlen unterhalb dieser Wellenlänge. Da das Tachysterin toxisch ist und sehr empfindlich gegen den Luftsauerstoff, empfiehlt es sich, lieber längere Strahlen zu verwenden. Die Verwendung von Strahlen zwischen 270—300 m$\mu$ ist patentrechtlich geschützt in den DRP. 634 146, *Österr. Pat.* 148 370, *Schweiz. Pat.* 156 889, *Jugoslaw. Pat.* 8 288, *Holl. Pat.* 35 579, *Amer. Pat.* 1 904 751, *Belg. Pat.* 371 967, *Engl. Pat.* 343 528, *Franz. Pat.* 700 312, 40 142, *Austr. Pat.* 1772/31.

Auch die Verwendung anderer Wellenlängen ist geschützt und es gibt eine ganze Reihe meist Amer. und Canad. Patente darauf.

Man erreicht die Ausschaltung unerwünschter Strahlenarten durch geeignete *Lichtfilter*. Sie werden hergestellt, indem man entsprechende Flüssigkeiten in Quarzküvetten einfüllt und zwischen Lichtquelle und zu bestrahlender Lösung einschaltet. Mit einer 5proz. Benzollösung bei 10 mm Schichtdicke lassen sich z. B. die Wellenlängen unter 270 m$\mu$ gut zurückhalten (DRP. 634 146). Dasselbe Patent empfiehlt auch p-Xylol. Das DRP. 565 900 schlägt Diphenyl in 0,005proz. Lösung in Benzin vor. Das *Belg. Pat.* 378 778 beschreibt die Verwendung von

Schwefelkohlenstoff, welcher die Strahlen 313,2 m$\mu$ und 312,6 m$\mu$ aussiebt. Gleichfalls geeignet zur Ausschaltung der unter 275 m$\mu$ liegenden Strahlen sind Filter aus einer 5proz. Bleiacetatlösung (Amer. Pat. 1 982 029).

Die Bestrahlung wird meistens in Lösung durchgeführt. Das Lösungsmittel muß natürlich für die betreffenden Wellenlängen durchlässig sein. Es wird im allgemeinen bei Zimmertemperatur gearbeitet, jedoch gibt es eine ganze Reihe von Vorschlägen, die andre Temperaturen und andere Bedingungen fordern, da dadurch die Ausbeuten erhöht werden sollen und die Bildung der Nebenprodukte der Bestrahlung eingeschränkt werden soll. In der Tabelle 6 sind einige Patente nach ihren Bestimmungen geordnet.

Tabelle 6

| Bestimmung | Patente |
|---|---|
| **Lösungsmittel:** | |
| Alkohol, Essigester | Engl. Pat. 286 665, 335 277 |
| Dioxan und Mischungen dess. mit Essigester, Benzol, Triäthanolamin | Amer. Pat. 1 955 554 |
| Äther · Sesamöl (60 : 20) | Holl. Pat. 32 096 |
| Alkohol und etwas Äthylen oder KOH | DRP. 499 524 |
| Pentan und Heptan | Engl. Pat. 321 992 |
| Benzol (zur Aufarbeitung der Reaktionsprodukte) | DRP. 565 900, 576 021 |
| **Temperaturen:** | |
| 70° | DRP. 499 524 |
| Siedetemperatur (Alkohol oder Essigester) | Engl. Pat. 335 277 |
| **Vermeidung von Oxydationen:** | |
| In Stickstoffatmosphäre | Engl. Pat. 316 803; Österr. Pat. 113 123, 119 210 |
| Im Vakuum | Amer. Pat. 1 762 105; Schwed. Pat. 67 152 |

Die Abhaltung des Luftsauerstoffs, gegen den die Bestrahlungsprodukte sehr empfindlich sind, kommt natürlich nur bei Verwendung offener Bestrahlungsgefäße, wie Schalen usw., in Frage. Wird kontinuierlich in geschlossenen Durchlaufapparaten gearbeitet, so müssen diese luftfrei gefüllt sein. Da durch die Wirkung der ultravioletten Strahlen der Luftsauerstoff durch Ozonbildung aktiviert wird, kann bei der Bestrahlung fester oder pulverförmiger Materialien allerdings eine schwere Schädigung der Bestrahlungsprodukte eintreten. Es müssen dann besondere Vorkehrungen getroffen werden, um die Luft ozonfrei zu machen. Das DRP. 502 726 arbeitet so, daß eine Luftströmung vom Bestrahlungsgut aus gegen die Lampe gerichtet wird, worauf die ozon-

haltige Luft abgesaugt wird. Dazwischenschalten einer Quarzplatte wird in manchen Fällen genügen, wenn gleichzeitig eine Ventilation für Abzug der ozonisierten Luft sorgt.

Bestrahlungsdauer: Während man zuerst die Bestrahlungsdauer rein biologisch nach der Wirksamkeit der entstandenen Umwandlungsprodukte festlegte, kam man wegen vieler Mängel dieser Methode, bald zur Einsicht, daß es einer genauen physikalischen oder chemischen Kontrolle bedarf, um die Umwandlung in der gewünschten Richtung verlaufen zu lassen. Die Vorschriften der ersten Patentschriften auf diesem Gebiete verlangen, daß mit der Bestrahlung abgebrochen werden soll, wenn das Maximum an biologischer Wirksamkeit erreicht ist, ohne daß die entstandenen Produkte wieder zerstört werden (Amer. Pat. 1 680 818; DRP. 605 960; Engl. Pat. 236 197; Franz. Pat. 587 187).

Ganz allgemein werden 60% des Ergosterins umgewandelt, wenn eine Ausbeute an 25% reinem Vitamin $D_2$ erhältlich ist. Nach dem DRP. 634 146 wird die Bestrahlung abgebrochen, wenn noch nicht 60% des Ergosterins umgewandelt sind. Nachdem die Umwandlungsprodukte von Digitonin nicht mehr gefällt werden, kann der Umstand, daß wenig oder nichts mehr mit diesem Saponin reagiert, als Kriterium für das Ende des Bestrahlungsvorganges angesehen werden. Es kann jedoch nicht auf die Menge des tatsächlich gebildeten Vitamins $D_2$ geschlossen werden, da ja auch die anderen Umwandlungsprodukte nicht mehr mit Digitonin reagieren. Zweckmäßig soll die Bestrahlung unterbrochen werden, wenn noch etwa 4% Ergosterin unverändert sind (Franz. Pat. 659 448).

Am besten geeignet zur Bestrahlungskontrolle sind physikalische Vorrichtungen, wie die Verfolgung und Kontrolle des Ultraviolettspektrums mittels eines Quarzspektrographen. Die Erhöhung der Absorption zwischen 250 m$\mu$ und 230 m$\mu$ zeigt die Umwandlung des Ergosterins an. Im Engl. Pat. 296 093 ist eine Methode beschrieben, nach welcher man die zu bestrahlende Lösung kontinuierlich durch die Küvette des Spektrographen leitet. Man kann jedoch auch von Zeit zu Zeit eine Probe der Lösung entnehmen und prüfen.

Eine automatische Kontrolle der Bestrahlung gestattet eine im Franz. Pat. 659 448 beschriebene photoelektrische Zelle, deren Empfindlichkeit auf eine Wellenlänge von 230—300 m$\mu$ eingestellt ist und die ein Minimum an Strom liefert, wenn das Maximum an Vitamingehalt erreicht ist.

Reinigung und Isolierung der Bestrahlungsprodukte: Als Muster der auch in der Technik verwendeten Reinigungs-

methoden kann das auf Seite 49 beschriebene Verfahren dienen, das in seinen Grundzügen ebenfalls patentiert ist (DRP. 565 900, 576 021, 583 791). Die wichtigsten Etappen dieser Verfahren bezwecken die Entfernung des unveränderten Ergosterins und die Isolierung des reinen Vitamins $D_2$ aus dem Gemisch mit den giftigen und antirachitisch unwirksamen Zwischen- und Nachprodukten der Ergosterinbestrahlung (Lumisterin, Tachysterin, Toxisterin, Suprasterine).

Man kann das unveränderte Ergosterin auch durch Krystallisation aus Essigester oder Alkohol entfernen; die Fällung mit Digitonin ist jedoch die sicherste Methode. Das Vitamin findet sich in dem petrolätherischen Auszug. Durch Zusatz von Maleinsäureanhydrid oder Citraconsäureanhydrid lassen sich die unwirksamen Begleitstoffe ausfällen, da sie sehr gut mit diesen Anhydriden reagieren, das Vitamin dagegen sehr schwer. Der Vitaminanteil wird wieder mit Petroläther ausgezogen, in dem die Addukte unlöslich sind. Aus den Rückständen des Petrolätherauszuges kann das Vitamin $D_2$ auf Grund seiner Eigenschaft, mit Dinitrobenzoesäure leicht Ester zu bilden, isoliert werden. Nach der Verseifung geben diese Ester das reine Vitamin $D_2$.

Statt des reinen Ergosterins lassen sich auch die Ester des Ergosterins bestrahlen und in physiologisch wirksame Produkte umwandeln. Das DRP. 567 333 beschreibt Ester der Bernsteinsäure und Phthalsäure. Diese Ester des Vitamins $D_2$ sind in Form ihrer Salze wasserlöslich. Das freie Vitamin kann durch Verseifung der Ester gewonnen werden. Man kann natürlich auch das freie Vitamin $D_2$ mit Bernstein- oder Phthalsäureanhydrid verestern (DRP. 501 954, 495 450).

Bestrahlung provitaminhaltiger Materialien: Es müssen nicht immer die reinen Provitamine selbst bestrahlt werden, um Vitamin-D-Präparate zu erhalten. Denselben Zweck erreicht man durch entsprechende Behandlung provitaminhaltiger tierischer oder pflanzlicher Stoffe. Besonders Milch und Hefe gehören hierher, aber auch Mehl, Getreidekörner, Backwaren usw. Die Bestrahlung fester oder pulverförmiger Substanzen wird so durchgeführt, daß diese in dünner Schicht langsam vor der Lichtquelle vorbeigeführt werden, wobei eine Ventilationseinrichtung für Abzug der ozonisierten Luft sorgt. Das Förderband soll aus einem nichtreflektierenden Material, am besten Leinwand, bestehen.

Bei der Bestrahlung von Milch ist es wichtig, daß die Milch gleichzeitig gekühlt wird. Man kann dies durch Kammerkühlung der um die Lampe zirkulierenden Milch erzielen, oder durch eine niedrigere Betriebsspannung der Bestrahlungslampe (DRP. 632 783). Das DRP. 648 326 beschreibt eine Bestrahlungslampe, die in die Milch eingetaucht wird und

die mittels einer besonderen Vorrichtung den Strom nach einer bestimmten Zeit umschaltet. Eine Überbestrahlung kann deshalb nicht eintreten.

Die Tabelle 7 faßt eine Anzahl von Patenten zusammen, welche die Bestrahlung von Nahrungsmitteln zwecks Vitamin-D-Anreicherung schützen.

Tabelle 7

| Patent-Inhalt | Patent-Nummer |
|---|---|
| Bestrahlung von Hefe | DRP. 608 277; Amer. Pat. 1 681 120; 1 871 136, 2 057 399; Poln. Pat. 13 573; Ung. Pat. 103 414 |
| „ „ Hefefett | Amer. Pat. 1 681 120; Engl. Pat. 295 757; Poln. Pat. 11 156; Ung. Pat. 100 696 |
| „ „ Ölen und Fetten | DRP. 605 960; Amer. Pat. 1 680 818, 1 871 136; Engl. Pat. 236 197, 314 942; Franz. Pat. 587 187; Österr. Pat. 118 762 |
| „ „ Mehl, Getreidekörnern | DRP. 647 522; Amer. Pat. 1 871 135, 1 928 397; Kanad. Pat. 316 272; Franz. Pat. 779 847; Schweiz. Pat. 168 128; Kanad. Pat. 327 292 |
| „ „ Getreidekeimlingen | Austr. Pat. 30 247/30; Kanad. Pat. 333 422; Schweiz. Pat. 163 529; 168 613; Franz. Pat. 752 261 |
| „ „ Backwaren | DRP. 564 401; Amer. Pat. 1 796 134 |
| „ „ Unverseifbaren von Enteneiern | Belg. Pat. 415 556 |
| „ „ Unverseifbaren von Wirbellosen | Belg. Pat. 415 573 |
| „ „ Milch | DRP. 545 080, 564 736, 566 744, 577 531, 632 783, 648 326; Amer. Pat. 1 954 065; Engl. Pat. 324 503, 325 470, 346 682; Franz. Pat. 666 959, 667 660, 677 010; Österr. Pat. 118 248; Austr. Pat. 18 069/34 |
| „ „ Trockenmilch | Engl. Pat. 298 585 |
| „ „ Futtermitteln | Engl. Pat. 449 888 |

## 2. Polyenabkömmlinge (Vitamine A)

### Allgemeines

Im Jahre 1909 beobachtete Stepp[1]), daß Mäuse, die mit einem Futter ernährt wurden, aus dem alles in Äther-Alkohol Lösliche entfernt war, erkrankten und daß Zusätze von Cholesterin, Lecithin oder

[1]) W. Stepp, Biochem. Z. **22**, 452 (1909); Z. Biol, **57**, 135 (1911).

reinen Fetten die Tiere nicht zu heilen vermochten. Die gleichen Beobachtungen machten die Forscher Hopkins[2]) und Mc Collum[3]), indem sie Ratten mit einer bestimmten Kost ernährten: Bei jungen Tieren trat Wachstumsstillstand ein und es trat eine charakteristische Entzündung der Augenbindehaut (Xerophthalmie) ein. Die Krankheitserscheinungen ließen sich durch Zusatz von Milch, Butter oder Lebertran zum Futter beheben. Man bezeichnete den vermutlichen Wirkstoff als Wachstumsvitamin oder Vitamin A.

Wegen seines Vorkommens im Lebertran, dessen antirachitische Wirkung man kannte, hielt man das Vitamin A für identisch mit dem antirachitischem Prinzip. Steenbock[4]) einerseits und McCollum[5]) andererseits konnten jedoch nachweisen, daß durch Durchleiten von Luft durch Lebertran die antirachitische Wirkung erhalten blieb, während der Wachstumsfaktor zerstört wurde. Damit war gleichzeitig die leichte Oxydierbarkeit des Vitamins A bewiesen. Später fiel es auf, daß alle Öle und Fette, die sich durch den physiologischen Versuch als Vitamin A-haltig erwiesen, mit gewissen Säuren, Säureanhydriden und Halogeniden Farbreaktionen gaben. Gleiche Farbreaktionen geben gewisse in Pflanzen und Tieren vorkommende Farbstoffe, die sog. Lipochromfarbstoffe. Steenbock[6]) fand schon im Jahre 1919 einen Parallelismus zwischen der Vitamin-A-Wirksamkeit pflanzlicher Produkte und dem Carotinoidgehalt im unverseifbaren Anteil ihrer Extrakte. und er vermutete, daß eine Leukoverbindung des Lipochromfarbstoffes Carotin der Träger der A-Vitamin-Wirkung sei. Es gelang Steenbock, mit krystallisiertem Carotin-A-Mangelkrankheiten zu heilen. Diese Versuche konnten jedoch von anderen Forschern nicht bestätigt werden und so gerieten sie in Vergessenheit.

Inzwischen hatte man versucht, den Wachstumsfaktor aus Lebertranen zu isolieren. Die Japaner Takahashi[7]) und Kawakami und andere Forscher konnten hochaktive Fraktionen aus Lebertran herstellen. Die Öle waren alle gelblich gefärbt, zeigten jedoch ein von dem des Carotins verschiedenes Absorptionsspektrum und ein anderes Ver-

---

[2]) F. G. Hopkins und Neville, Biochem. J. **7**, 97 (1912).
[3]) McCollum und Davis, J. biol. Chem. **15**, 167 (1913).
[4]) J. biol. Chem. **56**, 355 (1923); **58**, 59 (1923).
[5]) J. biol. Chem. **53**, 293 (1922).
[6]) Steenbock und Groß, J. biol. Chem. **40**, 501 (1919).
[7]) J. chem. Soc. Jap. **44**, 580 (1923).

halten beim Entmischungsversuch zwischen Methylalkohol und Petroläther: Vitamin A findet sich bei der Entmischung hauptsächlich im Methylalkohol, das Carotin dagegen im Petroläther. Die chemische Durchforschung der Eigenschaften der Vitamin-A-Fraktionen aus Lebertran ergab, daß das Vitamin eine alkoholische Hydroxylgruppe enthält. Demgegenüber ist Carotin ein Kohlenwasserstoff.

Im Jahre 1928 hat v. Euler[8]) gemeinsam mit Karrer nachgewiesen, daß reines Carotin in Tagesdosen von 5—10 $\gamma$ A-Vitamin-Wirkung besitzt. Damit wurde die Vitamin-A-Forschung in neue Bahnen gelenkt. Mit der in kurzen Abständen folgenden Konstitutionsermittlung des Carotins und des Vitamins A wurden die Beziehungen dieser beiden Stoffe zueinander und zu ihrer gemeinsamen physiologischen Wirksamkeit erkannt. Das Carotin ist das Provitamin A, welches im Organismus in Vitamin A umgewandelt wird. Diese Umwandlung geht in der Leber vor sich.

Es gibt sowohl im Pflanzen- als auch im Tierreich eine ganze Anzahl chemisch sehr nahe verwandter Verbindungen, die die normale Struktur und Funktion der Haut, besonders der Schleimhaut, aufrecht erhalten und Mensch und Tier vor den charakteristischen Vitamin-A-Mangelkrankheiten schützen können. Diese Stoffe gehören alle zu der als Farbstoffe bekannten Klasse der Carotinoide. Im menschlichen und tierischen Organismus werden sie in die eigentlichen Vitamine A umgewandelt. Vitamine A kommen nur im Tierreich vor. Sie unterscheiden sich im Bau prinzipiell nicht sehr von den Provitaminen und haben vor allem den stark ungesättigten Charakter mit den Provitaminen gemeinsam, jedoch nur die halbe Molekülgröße ($C_{20}$) und eine primäre alkoholische Hydroxylgruppe.

Während man heute eine ganze Anzahl Provitamine A kennt, sind mit Sicherheit erst zwei Vitamine A ($A_1$ und $A_2$) bekannt. So findet sich in Seewasserfischen das Vitamin $A_1$, während Süßwasserfische das Vitamin $A_2$ enthalten.

Zum Unterschied von den Provitaminen D kann man die Provitamine A noch nicht künstlich in die Vitamine umwandeln. Dagegen kennt man einige A-Provitamine, die in der Natur nicht vorkommen. Auch sie werden jedoch im Organismus in das natürliche Vitamin A umgewandelt. Es ist für die A-Provitamine charakteristisch, daß nur derjenige Teil ihres Moleküls in das Vitamin umgewandelt werden kann, der in seinem Aufbau dem A-Vitamin entspricht.

---

[8]) B. v. Euler, H. v. Euler und P. Karrer, Helv. chim. Acta 12, 278 (1928).

Die physiologische Wirkung des Vitamins A erstreckt sich vor allem auf die Haut, besonders die Schleimhäute. Mangelnde Zufuhr von Vitamin A gibt sich dadurch zu erkennen, daß eine degenerative Veränderung aller Schleimhäute eintritt. Das epitheliale Gewebe beginnt teils zu wuchern, teils zu verhornen. Solche Erscheinungen treten zuerst im empfindlichen Genitalsystem auf, wo sie sich hauptsächlich an der Vaginalschleimhaut und an den Hoden zeigen, später aber an den Augen und an den Verdauungsorganen. Verbunden mit diesen Erscheinungen ist eine allgemeine Verminderung der Infektionsresistenz; man bezeichnet daher das Vitamin A auch als „Antiinfektionsvitamin". Ferner bewirkt A-Mangel Aussetzen des Wachstums, besonders bei jungen Tieren, Störungen im Zahnwachstum, starke Steinbildung im Urogenitalsystem, Nervenstörungen und Sehstörungen (Nachtblindheit).

Ganz allgemein führt Mangel an diesem Vitamin zu viel ausgedehnteren Schäden, als der Mangel an anderen Vitaminen, der meist zu einem scharf umrissenen Krankheitsbild führt.

## Die Provitamine A

### 1. Carotin

Allgemeines: Das Carotin gehört wie alle Provitamine dieser Gruppe in die Klasse der Polyenfarbstoffe oder Carotinoide. Die Carotinoide sind gelbe bis tiefrote, stickstofffreie Farbstoffe des Pflanzen- und Tierreiches, die ihren Namen nach dem wichtigsten Vertreter dieser Gruppe, eben dem Carotin, erhalten haben (Tswett)[9]. Die früher gebräuchlichen Bezeichnungen „Lipochrome" und „Chromolipoide" weisen auf das gemeinsame Vorkommen mit Fettstoffen hin, aber auch auf ähnliche Lösungsverhältnisse von Lipoiden und Carotinoiden.

Die Erforschung dieser Gruppe von Farbstoffen zerfällt in drei deutlich getrennte Abschnitte:

1. Seit Berzelius bis gegen 1905 wurden hauptsächlich mit Hilfe von botanischen und spektroskopischen Methoden eine große Anzahl von Carotinoiden in Tieren und Pflanzen nach Vorkommen, Morphologie und Nachweis beschrieben. Dabei blieb jedoch die Frage offen, ob es sich tatsächlich immer um verschiedene Stoffe handelte, denn die Anzahl der in tierischen und pflanzlichen Materialien aufgefundenen Carotinoide erreichte eine beträchtliche Höhe.

[9]) M. Tswett, Ber. 29, 630 (1911).

2. 1906—1913 wurden von Willstätter und seiner Schule exakte Verfahren zur Trennung und präparativen Darstellung von Carotinoiden ausgearbeitet, wobei die Carotinoide Carotin, Lycopin, Xanthophyll, Lutein und Fucoxanthin erstmalig in reinstem Zustande hergestellt wurden und ihre Zusammensetzung ermittelt werden konnte.

3. Ab 1929 begann die Aufklärung der Konstitution dieser Farbstoffe. Man erkannte die Beziehungen dieser Körper zum Isopren und zu anderen Naturstoffen. Die Verfeinerung der Methoden erlaubte eine Klärung der feinsten Unterschiede in den Molekülen der Carotinoide. Die physiologischen Untersuchungen eröffneten neue Perspektiven, die Synthese des Carotins gelang und weiter die Reindarstellung mehrerer bisher unbekannter Carotinoide. Gleichzeitig schwand die bunte Vielheit der früher als Carotinoide bezeichneten Stoffe zusammen, weil sich die meisten der als verschieden geschilderten Körper als identische Stoffe erwiesen.

Die Anzahl der heute bekannten, einwandfrei definierten Carotinoide beträgt etwa zwei Dutzend, doch dürfte sie mit dem Fortschritt der systematischen Pflanzenanalyse noch steigen. Man teilt die Carotinoide in zwei Klassen ein, in Kohlenwasserstoffe und in sauerstoffhaltige Carotinoide. Der Sauerstoff kann als alkoholisches Hydroxyl oder als Carboxyl fungieren. Eine andere Einteilung unterscheidet Carotinoide im engeren Sinne, die, wie das Carotin selbst, 40 Kohlenstoffatome enthalten, Farbwachse, welche als Ester von Carotinoiden mit Fettsäuren zu bezeichnen sind, und Carotinoide mit weniger als 40 Kohlenstoffatomen (und deren Farbwachse).

Die Carotinoide kommen hauptsächlich in höheren Pflanzen vor, wo sie als nie fehlende Begleiter des Chlorophylls (Blattgrün) erscheinen und zu den verbreitetsten Naturstoffen gehören. Aber auch niedere Pflanzen enthalten Carotinoide, wie Algen, Pilze und Bakterien. Aber auch in tierischen Geweben und Materialien kommen Carotinoide reichlich vor. Sie zählen zu den unentbehrlichen Bausteinen natürlicher Organismen, in denen sie lebensnotwendige Funktionen zu erfüllen haben. Als natürlich vorkommende Provitamine A kommen, soweit bisher bekannt, nur vier Carotinoide in Betracht.

Die Carotinoide sind stark ungesättigte Körper von Polyennatur, um deren Konstitutionsaufklärung sich R. Kuhn sowie P. Karrer besonders verdient gemacht haben. Pummerer konnte mittels Chlorjod die Zahl der Doppelbindungen bestimmen. Zechmeister durch katalytische Hydrierung. Die langen Systeme kon-

jugierter Doppelbindungen sind auch die Ursache des Farbstoffcharakters der Polyene. Durch Absättigen der Doppelbindungen geht die Farbe verloren. Der Aufbau der natürlichen Polyene ist analog jenem der von Kuhn und Winterstein[10]) erstmalig hergestellten Diphenylpolyene. Damit war das Grundprinzip des Aufbaues der Carotinoide erkannt: In ihnen hat die Natur lange, offene Ketten von konjugierten Doppelbindungen geschaffen, und als Endgruppen hydroaromatische Kerne oder Carboxyle angeschlossen. Das Kohlenstoffgerüst der Carotinoide ist weitgehend verzweigt und zwar enthält es Methylseitenketten in gegenseitigen 1,5-Stellungen. Damit ist auch der Zusammenhang der Polyene mit dem auch in anderen Naturstoffen vorherrschenden Baustein Isopren gegeben.

Vorkommen: 1831 teilte Wackenroder[11]) mit, daß die Wurzel der Mohrrübe (Daucus carota) einen, in rubinroten Tafeln krystallisierenden, Farbstoff enthält. In der Folgezeit wies man diesen Farbstoff auch in grünen Blättern nach, später in zahlreichen Blüten und Früchten. Besonders Paprikaschoten und Vogelbeeren erwiesen sich als reich an Carotin. In tierischen Produkten findet es sich ebenfalls in wechselnden Mengen; so wurde es in Rindergallensteinen, im Corpus luteum der Kuh, im Serum, in der Butter und in Körperfetten, in der Haut usw. nachgewiesen. Sein Vorkommen in der Natur ist ganz allgemein und das Carotin dürfte zu den verbreitetsten Pigmenten überhaupt gehören. Zu seiner präparativen Darstellung kommen vor allem Mohrrüben, Brennnesselblätter, Vogelbeeren und die reifen Fruchthäute des Paprika (Capsicum annuum) in Betracht. Sein Vorkommen in Palmöl dient ebenfalls zur Darstellung. In 100 kg frischen Mohrrüben (Karotten) sind ungefähr 1,5 g Carotin enthalten. Die getrockneten Blätter von Brennessel, Weide oder Pappel enthalten bis zu 15 g.

Konstitution: Verhältnismäßig spät ist es gelungen, das Carotin in Spaltstücke zu zerlegen, die es gestatteten, seine Konstitution aufzuklären. Auf eine Beobachtung von Willstätter aufbauend, konnten Karrer[12]) und Helfenstein bei der Oxydation von Carotin mit kalter, wässeriger Permanganatlösung etwas Ionon erhalten, ferner *a*, *a*-Dimethylglutarsäure, *a*, *a*-Dimethylbernsteinsäure und etwas Dimethylmalonsäure. Denselben Autoren (mit

[10]) R. Kuhn und A. Winterstein, Helv. chim. acta **11**, 87, 116, 123, 144 (1928).

[11]) Geigers Magaz. Pharm. **33**, 144 (1831).

[12]) P. Karrer und A. Helfenstein, Helv. chim. acta **12**, 1142 (1929).

Wehrli und Wettstein)[13]) gelang es dann, bei der Oxydation mit Ozon Geronsäure als besonders charakteristisches Abbauprodukt nachzuweisen. Dieselben Spaltstücke entstehen in ähnlicher Ausbeute aus dem $\beta$-Ionon. Da das Carotin nach dem Ergebnis der katalytischen Hydrierung zwei cyclische Systeme enthalten muß, konnte durch diese Spaltstücke der Charakter von mindestens einem dieser Ringe als erwiesen betrachtet werden. Zu den gleichen Ergebnissen gelangten Pummerer, Rebmann und Reindel[14]) durch Ozonabbau des Carotins, wobei sie größere Ausbeuten an Geronsäure und Essigsäure erhielten.

$\beta$-Ionon

$\alpha,\alpha$-Dimethyl-glutarsäure

$\alpha,\alpha$-Dimethyl-bernstein-säure

Dimethyl-malonsäure

Geronsäure

Essigsäure

Die widersprechenden Angaben über das optische Drehungsvermögen von reinem Carotin gaben Anlaß zu einer schärferen Überprüfung der präparativen Darstellung, die zu dem Ergebnis führte, daß drei isomere Carotine in der Natur verbreitet sind, die sich durch ihr optisches Drehungsvermögen unterscheiden. Es gelang mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse, diese drei Isomeren rein darzustellen und ihre Konstitution aufzuklären. Alle drei sind Provitamine A. Das $\alpha$-Carotin ist optisch aktiv und kommt in den Mohrrüben zu 10%

[13]) P. Karrer, A. Helfenstein und A. Wettstein, Helv. chim. acta **13**, 1084 (1930).

[14]) R. Pummerer, L. Rebmann und W. Reindel, Ber. **64**, 492 (1931).

vor. Das β-Carotin ist optisch inaktiv und bildet mit rund 90% die Hauptmenge im Mohrrübencarotin. Das ebenfalls inaktive γ-Carotin macht mit nur 0,1% einen sehr kleinen Anteil aus. Das Verhältnis der einzelnen Isomeren des Carotins in den verschiedenen Materialien unterliegt großen Schwankungen. Besonders reich an α-Carotin ist das Carotin des roten Palmöls, das bis 40% enthält. Vogelbeeren- und Kastanienblättercarotin enthält etwa 20—25% α-Carotin.

Der Abbau der einzelnen Carotinisomeren führte zu der Erfassung von Spaltstücken, welche es ermöglichten, genaue Konstitutionsformeln aufzustellen. Darnach unterscheiden sich die drei Isomeren durch den Bau der endständigen hydroaromatischen Ringe. Kuhn[15]) und Brockmann konnten durch stufenweisen Abbau des β-Carotins einen Abkömmling des Azafrins (Azafrinal, $C_{14}H_{16}O_3$) erhalten und damit den Zusammenhang dieser beiden Carotinoide sicherstellen (siehe S. 75). Aus dem Abbau des Azafrins konnte der Aufbau des mittleren, die beiden Ringe verknüpfenden Teiles des β-Carotins bewiesen werden. Die heute gültigen Konstitutionsformeln der drei Carotinisomeren können wie umstehend geschrieben werden.

Eigenschaften:

α-Carotin: $C_{40}H_{56}$. Aus Benzol-Methanol beiderseitig zugespitzte, flache Prismen, die vielfach zu Drusen vereinigt sind und gerade Auslöschung zeigen. Während des Krystallisierens zeigt α-Carotin lebhaften Kupferglanz, nach dem Absaugen sind die Krystalle violett. Schmp. 188,5°[16]); $[\alpha]^{20}_{Cd} = +365^0$ (in Benzol). Es ist wie die anderen Isomeren leicht löslich in Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol; in siedendem Petroläther ist es löslich, schwerer in kaltem. Schwer löslich in siedendem Äther. Sehr schwer löslich in siedendem absoluten Alkohol. In Wasser ist α-Carotin unlöslich. In fetten Ölen ist es ziemlich löslich.

Die Lösungen sind stark gefärbt. Verdünnte Lösungen sind intensiv gelb, konzentriertere Lösungen tief orangefarbig. Schwefelkohlenstoff löst mit roter Farbe. Die Lösungen tingieren je nach dem Medium verschiedenartig: In Äther grünlichgelb, in Chloroform bräunlichgelb, in Schwefelkohlenstoff rötlichbraun.

Versetzt man die petrolätherische Lösung mit Methylalkohol, der wenig Wasser enthält, so bleibt die methylalkoholische Schicht farblos.

α-Carotin ist wie alle Carotinoide gegen Sauerstoff sehr empfindlich, ebenso gegen Säuren, die es rasch zerstören. Gegen schwache

---

[15]) R. Kuhn und H. Brockmann, Annal. **516**, 95 (1935).

[16]) R. Kuhn und E. Lederer, Z. physiol. Chem. **200**, 246 (1931); Ber. **64**, 1349 (1931); P. Karrer und O. Walker Helv. chim. acta **16**, 641 (1933).

α-Carotin

β-Carotin

γ-Carotin

Alkalien ist es ziemlich widerstandsfähig. Halogen wird leicht angelagert, ebenso katalytisch erregter Wasserstoff. Beim Kochen wird es nur langsam zerstört.

*β*-Carotin: Aus Benzol-Methanol-Tafeln (Verwachsungsdrillinge). Dunkler violett als *α*-Carotin. Bruttoformel $C_{40}H_{56}$. Schmp. 184°. Optisch inaktiv. Es ist etwas schwerer löslich als das *α*-Carotin. Die übrigen Eigenschaften decken sich mit dem des *α*-Carotins.

*γ*-Carotin: Rotviolette Nadelbüschel. Schmp. 178°. Optisch inaktiv. $C_{40}H_{56}$.

Die Gemische der einzelnen Isomeren, die allgemein als „Carotin" bezeichnet werden und den größten Teil des in der Literatur beschriebenen Carotins ausmachen, zeigen einige, von den reinen Isomeren abweichende physikalische Konstanten. In der Tabelle 8 sind die wichtigsten Konstanten des Mischcarotins und der einzelnen Isomeren zusammengestellt, wobei auch die spektrographischen Daten angeführt sind.

Tabelle 8

| Konstante | Misch-Carotin | *α*-Carotin | *β*-Carotin | *γ*-Carotin |
|---|---|---|---|---|
| Schmelzpunkt | 174° (184°) | 188,5° | 184° | 178° |
| $[\alpha]_{Cd}^{20}$ (in Benzol) | verschieden | + 365° | 0° | 0° |
| Absorptionsbanden mμ | | | | |
| in Schwefelkohlenstoff | 524, 510, 475 | 511, 478, 446 | 520, 484, 452 | 533, 496, 463 |
| in Benzin | — | 478, 448 | 485, 452, 424 | 495, 462, 431 |

Die Lösungen der Carotine werden von ultravioletten Strahlen und von Röntgenstrahlen entfärbt. Die Krystalle selbst nehmen an der Luft begierig Sauerstoff auf, wobei sie an Gewicht zunehmen und ihre tiefrote Farbe verlieren.

Das Mischcarotin krystallisiert aus Alkohol-Schwefelkohlenstoff in Rhomboedern oder auch in charakteristischem, teils sternförmig gruppierten schleifsteinartigen Gebilden. Aus Petroläther scheidet es sich in fast quadratischen, oft eingekerbten Tafeln von lebhaftem Oberflächenglanz ab, bald mehr kupfrig, bald mehr stahlblau erscheinend. Aus Äther erhält man oft eingekerbte, vierseitige Blättchen. Krystallisationen aus Alkohol-Schwefelkohlenstoff enthalten $^1/_2$—$^2/_3$ Mole Krystallalkohol. Aus Benzol-Methanol krystallisiert es rein.

Bei der vollständigen Hydrierung mit Platin und Wasserstoff in Cyclohexan nimmt Carotin 22 Atome H auf und es resultiert das farblose, in feinen Nädelchen krystallisierende Perhydro-carotin, $C_{40}H_{78}$. Dieses zeigt keine Vitaminwirkung mehr.

Farbreaktionen: Der Nachweis des Carotins bzw. seiner Isomeren gründet sich auf die Eigenschaft der Polyene, mit gewissen Reagentien schöne und charakteristische Färbungen zu geben, die für die einzelnen Carotinoide verschieden sind und auf jeden Fall besondere Absorptionsbanden zeigen. Aus der Intensität der Färbungen kann man kolorimetrisch auf die Menge des Carotinoids schließen, so daß diese Reaktionen auch zur quantitativen Bestimmung geeignet sind. Kolorimetrische Bestimmungen sind natürlich auch auf Grund der Eigenfarbe dieser Körper ohne weiteres möglich. Man verwendet als Vergleichslösung eine Lösung von Azobenzol[17]). Die Standardlösung enthält 14,5 mg reinstes Azobenzol in 100 ccm 96proz. Alkohol. Die damit farbgleichen Carotinlösungen enthalten in 1 ccm Benzin (Sp. 70 bis 80°) 0,00235 mg Farbstoff. Man arbeitet mit Mikrokolorimetern, die 1 ccm Lösung enthalten. Schichtdicke der Standardlösung 10 mm.

Die Reaktionen des Carotins mit verschiedenen Reagentien sind in der Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9

| Reagens | Reaktion |
|---|---|
| 1. konzentr. Schwefelsäure . . . . . | tiefkornblumenblau |
| 2. Chloroformlösung (1—2 mg in 2 ccm) + konz. $H_2SO_4$ . . . . . . . . . | Unterschicht grün, dann sofort blau |
| 3. Lösung in Chloroform + 1 Tropfen rauchende Salpetersäure . . . . . | sofort blau, dann grün |
| 4. mit 95proz. Ameisensäure . . . . | kalt und kochend unlöslich. Die Säure bleibt auch beim Kochen fast farblos |
| 5. mit Dichloressigsäure . . . . . . | kalt nach 1—2 Min. violettstichig-blaue Lösung |
| 6. Chloressigsäure (geschmolzen) . . . | schwer löslich; schwach grünlich |
| 7. Trichloressigsäure (geschmolzen) . . | kalt sofort dunkelblau |
| 8. Trichloressigsäure (ca. 0,3 g in 1 ccm Chloroform) + 2 mg Farbstoff . . | gelb, in blau übergehend |
| 9. konz. methylalkohol. HCl . . . . | kein Farbumschlag |
| 10. Arsentrichlorid . . . . . . . . . | rot, dann rasch blau |
| 11. Antimontrichlorid . . . . . . . . | tief dunkelblau |
| 12. „ (in Chlorof.) + 1—2 mg Farbstoff auf 2 ccm Reagens . . . | bräunlich, sofort dunkelblau, dann violettstichig (beständig) |
| 13. Zinntetrachlorid (geschmolzen) . . | in der Wärme blau → violettblau → violett |

## 2. Kryptoxanthin und andere natürliche A-Provitamine

Das von Kuhn[18]) und Grundmann aus Physalis (Judenkirsche) und gelbem Mais isolierte Carotinoid Kryptoxanthin ist

[17]) R. Kuhn und H. Brockmann, Z. physiol. Chem. **206**, 41 (1932).
[18]) R. Kuhn u. Chr. Grundmann, Ber. **66**, 1746 (1933); **67**, 593 (1934).

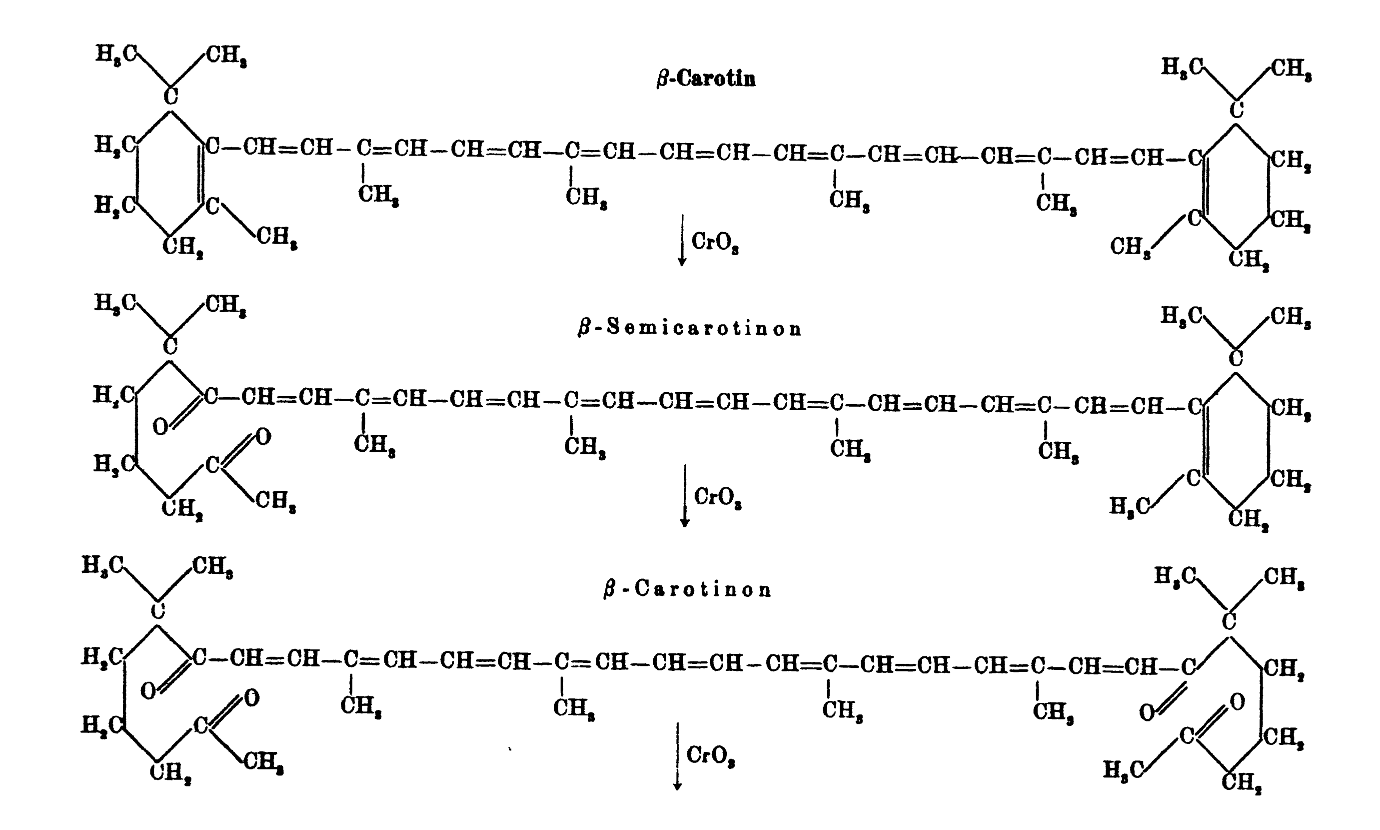
ebenfalls ein A-Provitamin. Es hat die Bruttoformel $C_{40}H_{56}O$ und ist deshalb als Carotinalkohol anzusprechen. In seinen Eigenschaften steht es dem Xanthophyll (Blattgelb) nahe, das als sehr verbreitetes Carotinoid ein steter Begleiter des Chlorophylls ist. Kryptoxanthin dürfte die Vitamin-A-Quelle der maisessenden Völker sein. Die Konstitution gibt die nebenstehende Formel wieder.

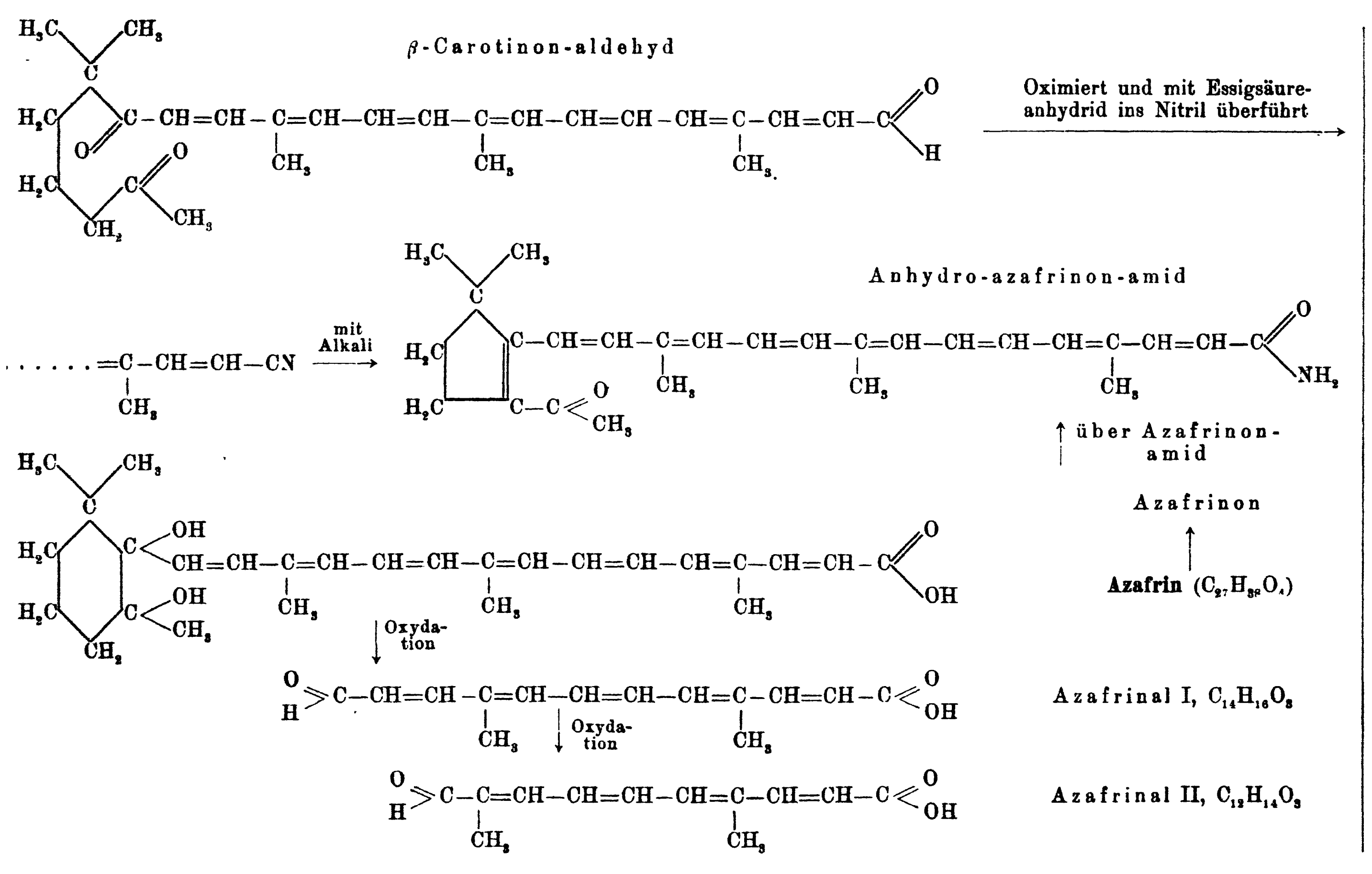
Kryptoxanthin

Kryptoxanthin bildet rotviolette Prismen vom Schmp. 169°. Es ist optisch inaktiv. Die Lage der Absorptionsbanden in Schwefelkohlenstoff ist 520, 484, 452, mμ. In Benzin 485, 452, 424 mμ.

Einige weitere Provitamine A sind dargestellt worden, besitzen jedoch wohl nur rein wissenschaftliches Interesse. So hat J. M. Heilbron[19]) aus Algen (Oscillaria rubrescens, Rivularia nitida) ein Provitamin A dargestellt. Dieses Myxoxanthin ist ebenfalls ein sauerstoffhaltiges Carotinoid der Formel $C_{40}H_{54}O$. Es bildet violette Prismen. Schmp. 168—169°. Optisch inaktiv. Absorptionsmaxima: In Schwefelkohlenstoff 488, in Petroläther 465, in Chloroform 473, in Alkohol 470 mμ. Myxoxanthin gibt ein Oxim, Schmp. 195°. Die Reduktion mit Aluminiumisopropylat gibt einen Alkohol, dunkelrote Krystalle, die bei 169—172° schmelzen. Zur Konstitution wird angenommen, daß es außer einem β-Iononring eine Ketogruppe trägt, die bei der Reduktion zum Alkohol reduziert wird.

[19]) J. M. Heilbron, B. Lythgoe, J. chem. Soc. London **1936**, 1376; Nature **136**, 989 (1935).


β-Carotin
CrO₃
β-Semicarotinon
CrO₃
β-Carotinon
CrO₃


β-Carotinon-aldehyd
Oximiert und mit Essigsäure-anhydrid ins Nitril überführt
mit Alkali
Anhydro-azafrinon-amid
über Azafrinon-amid
Azafrinon
Azafrin (C27H38O4)
Oxydation
Oxydation
Azafrinal I, C14H16O3
Azafrinal II, C12H14O3

Ein solches Monoketon dürfte auch das aus Echinus esculentus isolierte Provitamin A sein, dem die Entdecker E. Lederer und Th. Moore[20]) die Formel $C_{40}H_{56}O \pm H_2$ geben. Es schmilzt bei 192—193°. Die Maxima in Schwefelkohlenstoff liegen bei 520, 488, 450 m$\mu$. Es ist das erste Carotinoid mit Provitamin-A-Eigenschaften, das ausschließlich in tierischen Organismen vorkommt. Ein weiteres tierisches Provitamin soll nach G. Wald[21]) in den Sehapparaten der Augen vorkommen, das sich beim Belichten in Vitamin A umwandelt.

### 3. Synthetische Provitamine A

Außer diesen natürlich vorkommenden Provitaminen A kennt man einige synthetisch erhaltene Umwandlungsprodukte

Tabelle 10

| Name | Formel | Aussehen | Schmp. ° | $[\alpha]^{20}$ ° | m$\mu$ Absorptionsbanden (Benzin) |
|---|---|---|---|---|---|
| $\alpha$-Carotindijodid[22]) | $C_{40}H_{56}J_2$ | Violette Nadeln | | | |
| $\alpha$-Dihydro-carotin[23]) | $C_{40}H_{58}$ | Rote Kryst. | | + 140 | |
| $\alpha$-Semi-carotinon[24]) | $C_{40}H_{56}O_2$ | Nadeln | 135 | | 533,499 |
| $\beta$-Carotindijodid[22]) | $C_{40}H_{56}J_2$ | Violette Nadeln | | | |
| $\beta$-Dihydro-carotin[23]) | $C_{40}H_{58}$ | Rote Kryst. | | | |
| $\beta$-Carotinoxyd[25]) | $C_{40}H_{56}O$ | Gelblichrote Nadeln | 161 | — | 453,423 |
| $\beta$-Oxycarotin[23]) | $C_{40}H_{58}O_3$ | Rotgelbe Nadeln | 184 | — | 478,448 |
| $\beta$-Semicarotinon[26]) | $C_{40}H_{56}O_2$ | Rote Blättchen | 119 | — | 504,470 |
| $\beta$-Semicarotinon-monooxim[27]) | $C_{40}H_{57}O_2N$ | Rote Blättchen | 135 | — | 501,470 |
| $\beta$-Dehydro-semicarotinon[28]) | $C_{40}H_{54}O$ | Schwarze Blättchen | 176 | — | 512,480 |
| $\beta$-Apo-2-carotinal[29]) | $C_{30}H_{40}O$ | | | | |
| $\beta$-Apo-2-carotinal-oxim[29]) | $C_{30}H_{41}ON$ | | | | |
| $\beta$-Apo-4-carotinal-oxim[29]) | $C_{25}H_{35}ON$ | | | | |

[20]) Nature **147**, 996 (1936).

[21]) Nature **139**, 1017 (1937); **140**, 197 (1937).

[22]) P. Karrer, H. v. Euler und U. Solmssen, Helv. chim. acta **17**, 1169 (1934); P. Karrer, U. Solmssen und O. Walker, Helv. chim. acta **17**, 417 (1934).

[23]) R. Kuhn und H. Brockmann, Ber. **64**, 1859 (1931); **65**, 894 (1932); Z. physiol. Chem. **213**, 1 (1932); P. Karrer, R. Morf und O. Walker, Helv. chim. acta **16**, 975 (1933); H. v. Euler, P. Karrer und Mitarb., Helv. chim. acta **14**, 839 (1931).

(Fortsetzung nebenstehend)

aus Carotin, die Vitamin-A-Wirkung zeigen. Es sind dies vor allem die teilweise hydrierten Carotine und eine Jodverbindung, aber auch Oxydationsprodukte des Carotins. Alle diese künstlichen Verbindungen enthalten jedoch noch einen Teil des Carotinmoleküls intakt, der für die Wirksamkeit als Provitamin von Wichtigkeit ist. Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß es der Forschung vielleicht gelingen wird, diese Umwandlungsprodukte natürlicher Carotinoide in pflanzlichen oder tierischen Materialien aufzufinden. Die Dijodverbindung dürfte wahrscheinlich im Organismus in das freie Carotin zurückverwandelt werden.

Die synthetischen Provitamine A sind in der Tabelle 10 nach ihren Eigenschaften zusammengestellt. Einige Konstitutionsformeln sind auf S. 74, 78 und 79 angegeben.

## Vitamin-A-Wirkung und chemische Konstitution

Vergleicht man die Formeln der einzelnen Provitamine A, so fällt es auf, daß eine bestimmte Hälfte im Molekül immer genau die gleiche Konstitution aufweist. Es ist diejenige, welche einen endständigen *β*-Iononring (bis zur linken Punktreihe) trägt und bis zum Kohlenstoffatom 20 (rechte Punktreihe) die gleiche Anordnung der konjugierten Doppelbindungen aufweist. Die andere Hälfte des Moleküls kann Änderungen unterworfen sein, die mitunter recht einschneidend sind, wie dies z. B. beim *β*-Apo-2-carotinal der Fall ist. Die folgende Formel zeigt den für die physiologische Wirksamkeit wichtigen Bau der Molekülhälfte:

```
 H3C   CH3
    \ /
     C
    / \
H2C    C - CH=CH-C= : CH - CH=CH-C=CH-CH= : . . . . . .
 |     ||         |  :              |     :
 |     ||        CH3 :             CH3    :
H2C    C
    \ / \
    CH2  CH3

β-Iononring
```

[24]) R. Kuhn und H. Brockmann, Ber. **66**, 1319 (1933).

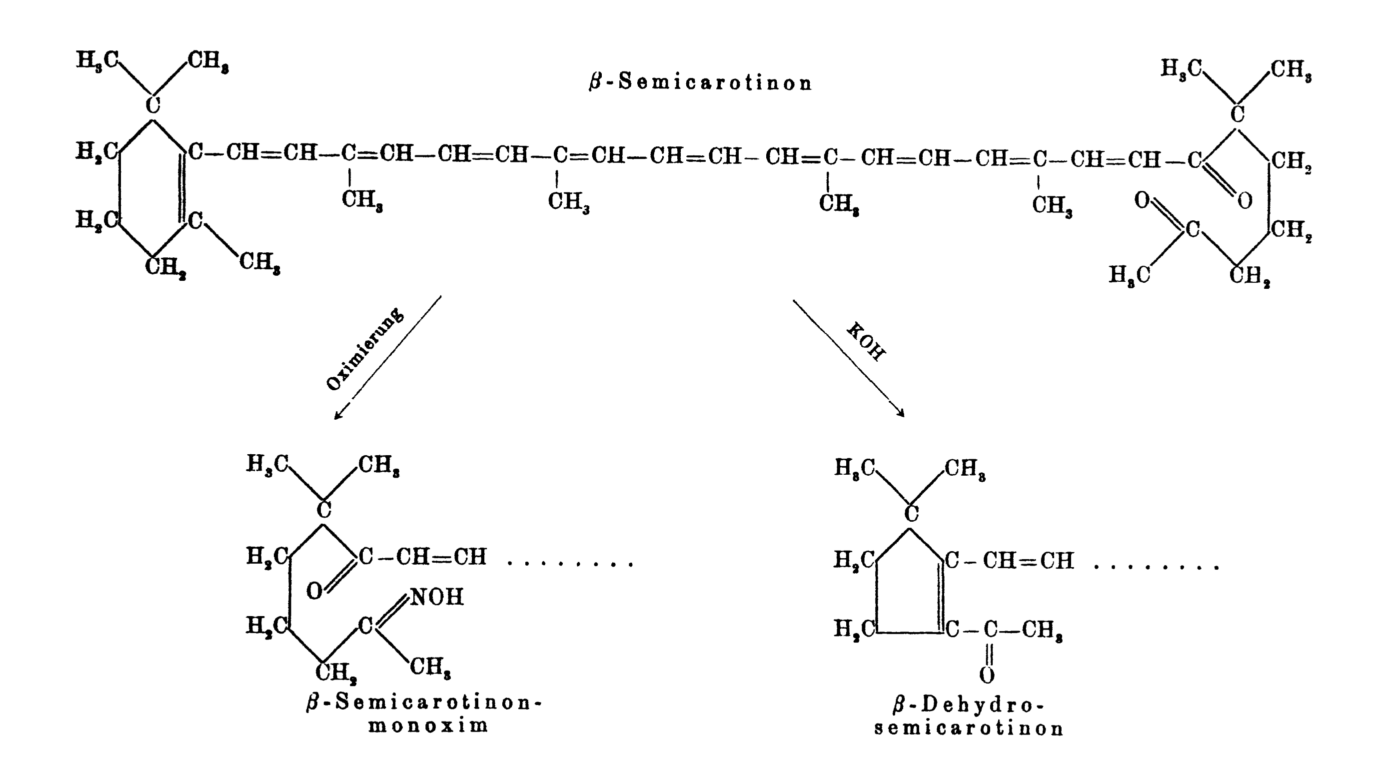
[25]) P. Karrer und O. Walker, Helv. chim. acta **15**, 1507 (1932).

[26]) R. Kuhn und H. Brockmann, Ber. **67**, 1408 (1934).

[27]) R. Kuhn und H. Brockmann, Ber. **67**, 1408 (1934).

[28]) R. Kuhn und H. Brockmann, Fortschr. d. physiol. Chemie **1935**, 233.

[29]) H. v. Euler, P. Karrer und U. Solmssen, Helv. chim. acta **21**, 211 (1938).


β-Semicarotinon
Oximierung
KOH
β-Semicarotinon-monoxim
β-Dehydro-semicarotinon

Der Vergleich der kleinsten wirksamen Gaben der einzelnen Provitamine A zeigt die Wirksamkeit nur dieser Molekülhälfte. So ist $\beta$-Carotin mit 2,5 $\gamma$ Tagesgabe an der Ratte am wirksamsten, während $\alpha$- und $\gamma$-Carotin dieselbe Wirkung erst mit je 5 $\gamma$ erreichen. Das Carotindijodid ist in einer Menge von 40 $\gamma$ wirksam. Kryptoxanthin mit 5 $\gamma$, die übrigen Provitamine, ebenso die synthetischen, sind mit 5 $\gamma$ physiologisch wirksam. Da nun $\beta$-Carotin aus genau zwei gleichen physiologisch wirksamen Hälften besteht, die anderen Provitamine aber immer nur je eine Hälfte der physiologisch wirksamen Konstitution aufweisen, können sie auch nur halb so wirksam sein und sie müssen tatsächlich in der doppelten Menge angewandt werden, wenn ihr physiologischer Effekt der gleiche sein soll wie der des $\beta$-Carotins.

$\beta$-Apo-2-carotinal

$\beta$-Apo-4-carotinal

Diese Regel geht auch aus dem physiologischen Verhalten gewisser oxydativer Abbauprodukte des Carotins hervor. So ist $\beta$-Semicarotinon, das den $\beta$-Iononring noch unversehrt auf einer Seite enthält, wirksam, während das $\beta$-Carotinon, das beide Ringe geöffnet hat, völlig unwirksam ist. Gleichzeitig sieht man, daß selbst eine Verschiebung der Doppelbindung im Iononring zum $\alpha$-Ionon genügt, um die eine Molekülhälfte physiologisch unwirksam zu machen. Deshalb ist das $\alpha$-Carotin nur halb so wirksam wie das $\beta$-Carotin, da es einen $\beta$-Ionon- und einen $\alpha$-Iononring enthält. Auch die Anwesenheit

einer Hydroxylgruppe im Ring, selbst in einem β-Iononring, vernichtet bei sonst gleichbleibender Konstitution die Wirksamkeit der betreffenden Molekülhälfte (Kryptoxanthin). Diese Spezifität der Vitamin-A-Wirkung ist so groß, daß sie umgekehrt zum Nachweis der β-Iononhälfte in unbekannten Carotinabkömmlingen herangezogen werden kann.

β-Iononring

α-Iononring
* assym. C-Atom

Xanthophyll, $C_{40}H_{56}O_2$

## Darstellung der Provitamine A

### Technische Darstellung von Rohcarotin

Nur die Mohrrübe (Daucus carota) enthält das Carotin als praktisch einzigen Farbstoff, weshalb die Gewinnung aus den Mohrrüben einfach und billig ist. Das Ausgangsmaterial ist allerdings nur zu bestimmten Jahreszeiten in geeigneter Form zu erhalten. Die im Handel befindlichen getrockneten Mohrrüben sind nur dann zur Carotindarstellung verwendbar, wenn sie unter bestimmten Vorsichtsmaßregeln hergestellt worden sind und nicht zu alt sind. Manche dieser Handelspräparate enthalten nur noch wenig Farbstoff.

Nach dem Amer. Pat. 2 032 165 werden getrocknete Mohrrüben oder Spinat mit Benzol extrahiert. Man dampft das Lösungsmittel teilweise ab, bis der Fettgehalt des Rückstandes 5—20% beträgt. Ein Teil des Carotins krystallisiert aus und kann von der Mutterlauge getrennt und weiter gereinigt werden. Die Mutterlaugen werden vollkommen vom Lösungsmittel befreit und werden so als starke carotinhaltige, salbenartige Masse Nahrungsmitteln zugesetzt. Störende Geruchs- und Ge-

schmackstoffe, die aus den fetten Ölen bzw. deren Fettsäuren entstehen, können nach dem Schweiz. Pat. 166 607 durch Behandeln mit Wasserdampf entfernt werden.

Es gelingt nie, das gesamte Carotin zu gewinnen. Aus 1 kg Mohrrüben lassen sich im besten Falle 1 g Carotin gewinnen, wenn mit getrocknetem Material gearbeitet wird, und 0,1 g aus frischem Material. Aus 1 kg trockenem Brennesselmehl werden 0,2 g Carotin erhalten. Aus 1 kg trockener Paprikafruchthaut 0,3 g, was einer Ausbeute von 50% entspricht.

Beim Abpressen von zerkleinerten, frischen Karotten geht das meiste Carotin in den Preßsaft über. Der Preßsaft enthält sehr viel Eiweiß und andere Inhaltstoffe der Mohrrüben, die durch Zusatz von Milch- oder Zitronensäure ($p_H = 4{,}5$) koagulieren und dabei das gesamte Carotin mit sich reißen. Der Niederschlag wird abgesaugt und getrocknet und liefert bei der Extraktion mit Petroläther oder Benzol nach dem Verdunsten des Lösungsmittels fast reines Carotin. Den gleichen Effekt erreicht man durch Aufkochen der Preßsäfte, wobei die Eiweißstoffe ebenfalls koagulieren. Das Russ. Pat. 40 982 empfiehlt, die Eiweißsubstanzen und damit das Carotin mit basischem Bleiacetat zu fällen. Der Niederschlag wird getrocknet und das Carotin mit Petroläther extrahiert. An Stelle von Bleiacetat kann man nach dem Russ. Pat. 48 316 den erwärmten Preßsaft mit Magnesiumchlorid fällen.

Nach dem Amer. Pat. 1 967 121 werden frische, zerhackte Karotten unter Luftabschluß gekocht, wobei die Eiweißstoffe in der Zelle selbst koagulieren und alles Carotin adsorbieren. Beim Abpressen hinterbleibt ein Preßkuchen, der mit Aceton getrocknet wird und nach der Extraktion mit Petroläther reines Carotin gibt.

Für die Gewinnung reinen Carotins ist es notwendig, die großen Mengen pflanzlicher Fette, welche bei der Extraktion mit in den Extrakt übergehen, zu entfernen. Sie erschweren die Krystallisation des Carotins. Nach dem DRP. 468 301 wird zur Schonung des Carotins gerade so viel Alkali verwendet, daß die vorhandenen Fettmengen nicht ganz verseift werden. 20 kg Mohrrüben werden zerkleinert und die Masse im Vakuum bei 50—60° getrocknet. Das feingemahlene Pulver wird in Stickstoffatmosphäre 8—10 Stunden bei 50—60° mit 10 Liter Alkohol digeriert, der 100 g NaOH enthält. Nach dem Abkühlen wird filtriert und das Filtrat mit Salzsäure neutralisiert. Nach dem Abdampfen des Alkohols erhält man einen dicken, stark carotinhaltigen Syrup, aus dem das reine Carotin durch Umkrystallisieren gewonnen werden kann. Man kann die Seifen auch in Wasser lösen und mit Petroläther oder Benzol das Carotin

extrahieren. Das Amer. Pat. 2 032 006 empfiehlt, die Seifen mit einem wasserbindenden Mittel, z. B. entwässertes Natriumcarbonat oder Natriumsulfat, in ein Trockenpulver zu verwandeln und dieses dann mit Aceton usw. zu extrahieren.

Im allgemeinen genügt es, die getrockneten Mohrrüben mit Petroläther zu extrahieren und den eingedampften Extrakt einige Tage stehen zu lassen, um krystallisiertes Carotin zu erhalten. Der ölige Rest liefert, aus n-Propylalkohol umkrystallisiert, nach dem Amer. Pat. 1 988 031 weitere Mengen Carotin.

Für die Gewinnung von Carotin zu wissenschaftlichen Zwecken ist es angebracht, die Trocknung zu vermeiden, da dabei ziemlich viel Carotin zerstört wird. Man kann den frischen, fein zerkleinerten Mohrrüben das Wasser durch Behandlung mit Alkohol entziehen, worauf man die noch alkoholfeuchten Rückstände in bekannter Weise mit einem Lösungsmittel extrahiert. Nach dem Amer. Pat. 2 031 991 kann man die frischen, feuchten Karotten mit entwässertem Natriumsulfat oder Gips trocknen und das Trockengut mit Petroläther usw. extrahieren.

### Krystallisiertes Carotin

1. Aus Brennesselblättern[30]): 100 kg mehlfein gemahlene trockene Brennesselblätter werden in der Kälte mit 120 Liter Petroläther (Sp. 40—70°) 2 Tage lang ausgezogen, die Lösung abgesaugt und der Rückstand mit 60 Liter Petroläther nachgewaschen. Die petrolätherische Lösung wird zwecks Entfernung von etwas Chlorophyll mit wenig konz. alkoholischen Kali geschüttelt, das Alkali mit Wasser ausgeschüttelt und der Extrakt im Vakuum auf 3 Liter eingedampft. Der dickflüssige Rückstand wird eintrocknen gelassen, in Petroläther gelöst, mit Alkohol gefällt und der Niederschlag abgesaugt. Nach dem Lösen in Schwefelkohlenstoff wird wieder mit Alkohol gefällt. Ausbeute etwa 3 g.

2. Aus Mohrrüben[31]): 1 kg bei 40—60° getrocknete Mohrrübenschnitzel werden mit insgesamt 3 Liter Petroläther (Sp. bis 70°) in einer großen Flasche perkoliert. Die vereinigten filtrierten Auszüge werden im Vakuum bei 30—40° eingedampft auf etwa 100—200 ccm, worauf 100 ccm Schwefelkohlenstoff zugesetzt werden. Hierauf wird das Carotin mit 1 Liter absolutem Alkohol gefällt. Man geht dabei so vor, daß man alle 2—5 Minuten einen kleinen Teil des Alkohols zusetzt, um-

[30]) R. Willstätter und W. Mieg, Annal. 355, 1 (1907).
[31]) R. Willstätter und H. H. Escher, Z. physiol. Chem. 64, 47 (1910).

schwenkt und wieder einen Teil des Alkohols zusetzt, bis die ersten feinen Krystalle des Carotins erscheinen. Hierauf wird von den bereits ausgeschiedenen, wachsartigen Substanzen auf einem vorbereiteten Filter schnell abfiltriert und zum Filtrat der Rest des Alkohols rasch zugegeben. Man läßt über Nacht im Eisschrank stehen (zweckmäßig unter Stickstoff oder Kohlensäure). Das abgesaugte Carotin wird in wenig Schwefelkohlenstoff gelöst, mit Alkohol gefällt und aus Petroläther umkrystallisiert. —

Nach Kuhn und Lederer[32]) werden 10 kg getrocknete und gemahlene Karottenschnitzel zunächst einer Vorextraktion mit 15 Liter Methanol unterworfen. Der Rückstand wird dann mit 15 Liter Petroläther extrahiert. Der Extrakt wird im Vakuum unter Kohlensäure auf $^1/_{10}$ seines Volumens eingeengt, worauf beim Abkühlen das Carotin auskrystallisiert (3 g). Dieses wird in heißem Benzin gelöst und die Lösung von einem farblosen Wachs abfiltriert. Dann wird mit Methanol gefällt und viermal durch Lösen in warmem Benzol und vorsichtigen Zusatz von warmem Methylalkohol umkrystallisiert.

3. Aus Palmöl: Nach Amer. Pat. 1 978 981 wird rohes Palmöl in Petroläther gelöst und filtriert. Man setzt nun feingepulvertes Jod zu und läßt stehen. Das ausgeschiedene Carotinjodid wird durch Lösen in Chloroform und Fällen mit Petroläther gereinigt. Durch Behandeln mit Natriumthiosulfat wird das reine Carotin erhalten. Man setzt ein Drittel des wahrscheinlichen oder kolorimetrisch ermittelten Farbstoffgewichtes an Jod zu.

## Darstellung von α-, β- und γ-Carotin:

Zur Trennung der isomeren Carotine sind besonders zwei Methoden von Wichtigkeit geworden, die zur Einzeldarstellung von α- und β-Carotin dienen. Diese beiden Carotine sind meist gemeinsam in den Ausgangsmaterialien vorhanden, während das γ-Carotin nur in sehr kleinen Mengen vorkommt. Seine Darstellung hat deshalb nur wissenschaftlichen Wert.

1. Das Jodidverfahren: Aus einer Lösung des Carotingemisches in Benzol, Toluol, Benzin, Petroläther, Cyclohexan usw. kann das β-Carotin mit Jod als Dijodid abgeschieden werden, während das α-Carotin in angereicherter Form zurückbleibt. Aus dem Jodniederschlag wird das freie β-Carotin durch Behandlung mit Natriumthiosulfat zurückgewonnen. Um die zur Jodfällung richtige Menge Jod zu finden, wird die wahrscheinliche Menge an β-Carotin aus dem spez. Drehungs-

[32]) R. Kuhn und E. Lederer, Ber. 64, 1349 (1931).

vermögen des Carotingemisches berechnet. Das Verfahren wird im D R P. 567 683 beschrieben.

2. Das Adsorptionsverfahren: Eine Lösung von Carotin in einem organischen Lösungsmittel läßt man durch eine Säule von Aluminiumoxyd fließen, wobei verschiedene Farbzonen auftreten. Die obere Zone enthält vorwiegend β-Carotin, die untere α-Carotin. Die Zonenschichten werden mit Petroläther-Methanol ausgezogen (eluiert). Das Verfahren wird ebenfalls vom D R P. 567 683 geschützt.

Ganz allgemein kann man α- und β-Carotin durch ihre verschiedene Löslichkeit in Petroläther trennen. β-Carotin ist in diesem Lösungsmittel etwas schwerer löslich als α-Carotin; es wird also zuerst auskrystallisieren. —

Nach Karrer und Walker[33]) sind zur Trennung von α- und β-Carotin Chromatographie der Petrolätherlösung an gelöschtem Kalk oder Magnesiumhydroxyd besonders geeignet. Winterstein[34]) beschreibt ein Verfahren, das auch die Gewinnung von γ-Carotin gestattet.

300 g Schalen von Gonocaryumfrüchten werden in 500 ccm Aceton eingelegt, nach 24 Stunden abgepreßt und bei 40° getrocknet. Nach dem Mahlen in einer Kugelmühle wird das staubfeine, hellgelb gefärbte Pulver (70 g) mit insgesamt 750 ccm Petroläther (Sp. 30—50°) in der Kälte extrahiert. Der dunkel-orangegelb gefärbte Extrakt wird mit 10proz. methylalkoholischer Kalilauge versetzt und unter Luftabschluß 12 Stunden geschüttelt. Die Seifen werden durch Waschen mit Wasser entfernt, die Lösung getrocknet und im Vakuum auf 300 ccm eingeengt. Diese Lösung wird durch eine 17 cm hohe und 6 cm dicke Säule von aktiviertem Aluminiumoxyd (nach Brockmann) filtriert und mit 2 Liter gewaschenem Benzin (70°) zum Chromatogramm gewaschen. Es bilden sich vier scharfe Zonen, von denen die oberste aus dem Carotinoid Lycopin, die zweite aus γ,- die dritte aus β- und die unterste aus α-Carotin besteht. Die einzelnen Zonen werden zerlegt und mit Petroläther-Methanol eluiert, das Methanol ausgewaschen, der Petroläther bis auf ein kleines Volumen im Vakuum verdampft, worauf die Isomeren auskrystallisieren.

## Vitamin A

Vorkommen: Die ersten groß angelegten Versuche zur Reindarstellung des A-Vitamins durch J. C. Drummond und L. C. Baker[35]) führten zu keinem Erfolg. Es mußte dahingestellt bleiben,

[33]) P. Karrer und O. Walker, Helv. chim. acta **16**, 641 (1933).

[34]) A. Winterstein, Z. physiol. Chem. **215**, 51 (1933); **219**, 249 (1933).

[35]) Biochemic. J. **23**, 274 (1929).

eine bessere Quelle für das Vitamin zu finden, als es der von den beiden Forschern verwendete Dorschlebertran war. Die sofort von einer großen Anzahl Forscher verschiedener Länder aufgegriffenen Versuche erweiterten unsere Kenntnisse über das natürliche Vorkommen des A-Vitamins bedeutend und heute kennen wir Quellen, die das Vitamin in viel größerer Menge enthalten als der Dorschlebertran. In der Tabelle 11 sind die Vitamin-A-Vorkommen in einigen solchen natürlichen Quellen zusammengestellt.

Tabelle 11

| Vorkommen | Internat.-Einheiten/g |
|---|---|
| In Leberölen von: | |
| Dorsch | 600 |
| Schellfisch | 65 |
| Katzenwels | 1 000 |
| Meeraal | 4 200 |
| Scholle | 1 700 |
| Heilbutt | 100 000 |
| Makrelen-Hecht | 130 000 |
| Lachs, Salm | 5 000 |
| Stör | 13 000 |
| Steinbutt | 5 000 |
| Thunfisch | 120 000 |
| Schwertfisch | 200 000 |
| Stereolepis gigas | 600 000 |
| „ ishinagi | 300 000 |
| Süßwasserbarsch | 8 000 |
| Huhn (bei Normalfutter) | 20 000 |
| Gans ( „ „ ) | 14 000 |
| Perleidechse (Lacerta ocellata) | 56 000 |
| Kronenbasilisk (Basiliscus amer.) | 120 000 |

Das Vitamin A ist mit Sicherheit bisher nur in tierischen Organen nachgewiesen worden. Wenn pflanzliche Materialien Vitamin-A-Wirkung zeigen, dann sind die entsprechenden Provitamine die Träger dieser Wirksamkeit. Der Vitamin-A-Gehalt in den Organen der Pflanzenfresser scheint seinen Ursprung in den mit der Nahrung aufgenommenen Carotinoiden zu haben. Direkt oder indirekt sind die Carotine bzw. Kryptoxanthin die einzige Quelle für das gesamte Vitamin-A-Vorkommen. Es kann mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß die Tiere nicht imstande sind, das Vitamin A zu synthetisieren, sondern daß sie das Vitamin aus dem Provitamin bilden. Diese Umwandlung erfolgt nachweisbar in der Leber, die daher auch, neben den Nebennieren, das wichtigste Speicherorgan im Organismus darstellt.

Reine Fleischfresser nehmen das Vitamin A mit der Nahrung zu

sich, da Blut und Serum und die bereits genannten Organe Leber und Nebennieren immer Vitamin A enthalten. Tatsächlich ist z. B. die Katzenleber nicht imstande, Carotin in Vitamin A umzuwandeln.

Der Vitamin-A-Gehalt tierischer Organe ist deshalb von der Beschaffung des Futters abhängig. Leberfett von Weidetieren, die auf Wiesen weiden, enthält mehr Vitamin als das Fett von Tieren, die mit Trockenfutter genährt werden.

Milch enthält neben Vitamin A auch Carotin. Der Gehalt schwankt naturgemäß mit der Nahrung. Das Vitamin findet sich im Milchfett, geht also in die Butter über. Gute Sommerbutter enthält durchschnittlich 18 I.E./g, Winterbutter dagegen etwa 4—6 I.E./g.

Eidotter enthält ebenfalls wechselnde Mengen an Vitamin A. Menschliche Leber enthält durchschnittlich 200 I.E/g. Das Serum kann 20—30 I.E./g enthalten, Rinderblut 240, Kalbsblut bis 2000 I.E./g. Geringe Mengen finden sich auch in der Lunge und in den Nieren der Säugetiere.

Konstitution: Die Darstellung reiner Vitamin-A-Konzentrate durch Karrer[36]) aus dem Leberöl des Heilbutts erleichterte die Arbeiten zur Konstitutionsermittlung des Vitamins A. Die Beziehungen dieses Vitamins zu Carotin, die schon früher durch die gleiche physiologische Wirksamkeit beider Stoffe bewiesen war, erleichterte die Konstitutionsaufklärung, die zum größten Teil das Verdienst von P. Karrer und seinen Mitarbeitern ist.

Vitamin A ist ein Polyenalkohol von der Zusammensetzung $C_{20}H_{30}O$. Seine Konstitution gibt folgendes Formelbild wieder[37]):

```
  H3C   CH3
     \ /
      C
     / \
 H2C/   \\C—CH=CH—C=CH—CH=CH—C=CH—CH2OH
    |    ||         |            |
    |    ||        CH3          CH3
 H2C\    //C
     \  /   \
     CH2     CH3
```

Vitamin A (Axerophtol)

Durch Überführen der reinsten Präparate in ein Benzoat, p-Nitrobenzoat, Stearat und Acetat, deren Analysen in Übereinstimmung stehen zur Formel $C_{20}H_{30}O$ der unveresterten Verbindung, läßt sich nachweisen,

---

36) P. Karrer und R. Morf, Helv. chim. acta **14**, 1033, 1431 (1931); **16**, 625 (1933).

37) P. Karrer, R. Morf und K. Schöpp, Helv. chim. acta **14**, 1036, 1431 (1931).

daß der Sauerstoff als alkoholisches Hydroxyl vorliegt. Die Molekulargewichtsbestimmung ergab die Zahl 286. Das Ergebnis der katalytischen Hydrierung zeigt das Vorliegen von 5 Doppelbindungen an. Die verdoppelte Bruttoformel des Vitamins unterscheidet sich mit $C_{40}H_{60}O_2$ nur um zwei $H_2O$ von der des Carotins.

Bei der Ozonisation entsteht, wie aus dem β-Ionon, Geronsäure. Unter der Einwirkung von Oxydationsmitteln entsteht Essigsäure, die aus der verzweigten Polyenkette stammt.

$H_3C$ $CH_3$ C $CH_3$ $H_2C$ C—CH=CH—CO $H_2C$ C $CH_2$ $CH_3$

β-Ionon

Oxydation →

$H_3C$ $CH_3$ C $H_2C$ CO—COOH $H_2C$ CO—$CH_3$ $CH_2$

Geronsäure

← Oxydation von Vitamin A

Die von Karrer auf Grund dieser Tatsachen aufgestellte Konstitionsformel wurde durch die Synthese des Perhydrovitamins bewiesen, das sich als vollkommen identisch erwies mit dem durch vollständige katalytische Hydrierung von natürlichem Vitamin A erhaltenen Perhydro-A-Vitamin. Die Synthese durchläuft folgende Stufen: β-Ionon und Bromessigester werden nach Reformatzky zu I kondensiert. Durch katalytische Hydrierung und anschließende Reduktion mit Natrium und Alkohol erhält man den entsprechenden gesättigten Alkohol II, der in das Bromid überführt wird. Kondensation des Bromids mit Malonester gibt eine Dicarbonsäure, die durch Decarboxylierung in III übergeht. Diese kann nach Umwandlung in das Chlorid mittels Methyl-zink-jodid in das Keton übergeführt werden, das nach abermaliger Kondensation mit Bromessigester den Körper IV gibt. Die OH-Gruppe wird durch Brom substitutiert, das Brom durch Reduktion entfernt und die so entstandene Säure durch Reduktion mit Natrium in Alkohol in Perhydrovitamin A übergeführt.

$H_3C$ $CH_3$ C $H_2C$ C—CH=CH—C=CH—$COOC_2H_5$ → $H_2C$ C $CH_3$ $CH_2$ $CH_3$

I

$$H_3C \quad CH_3$$
$$C$$
$$H_2C \qquad CH-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_2-CH_2OH \longrightarrow$$
$$H_2C \qquad CH$$
$$CH_2 \quad CH_3$$

II

$$H_3C \quad CH_3$$
$$C$$
$$H_2C \qquad CH-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_2-CH_2-CH_2-COOH \longrightarrow$$
$$H_2C \qquad CH$$
$$CH_2 \quad CH_3$$

III

$$H_3C \quad CH_3$$
$$C$$
$$H_2C \qquad CH-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_2-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{COH}-\underset{\displaystyle COOR}{CH_2} \longrightarrow$$
$$H_2C \qquad CH$$
$$CH_2 \quad CH_3$$

IV

$$H_3C \quad CH_3$$
$$C$$
$$H_2C \qquad CH-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_2-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_2-CH_2OH$$
$$H_2C \qquad CH$$
$$CH_2 \quad CH_3$$

Perhydro-vitamin-A

Das synthetisch gewonnene und das aus natürlichem Vitamin dargestellte Perhydrovitamin lassen sich über die Bromide und Anlagerung von Na-Malonester sowie Decarboxylierung in zwei identische Säuren verwandeln, die über das Chlorid mit Methyl-zink-jodid in die Ketone überführbar sind. Deren Semicarbazone stimmen in den Analysenzahlen sowie in den Schmelz- und Mischschmelzpunkten vollkommen überein.

Die Synthese des Vitamins A selbst ist später von R. Kuhn

und J. O. R. Morris[38]), sowie von J. M. Heilbron und W. E. Jones[39]) ausgeführt worden. Die genaue Beschreibung dieser Synthese erfolgt im Abschnitt über die Darstellung des Vitamins A. Die folgenden Formelbilder sollen den Gang der Synthese veranschaulichen.

Die Doppelbindungen können zu cis-trans-Isomerie Anlaß geben. Die Verhältnisse sind jedoch noch vollständig ungeklärt. Es sind theoretisch 16 Isomere möglich. Welches der möglichen Isomeren das natürliche Vitamin A darstellt, ist unbekannt.

R = (Trimethylcyclohexenyl-ring: $C(CH_3)_2$, $H_2C$, $H_2C$, $CH_2$, $C$–$CH_3$) $C-CH=CH-\underset{CH_3}{C}=CH-$; Ester: $R-C{\lt}^{O}_{OC_2H_5}$

β-Jonyliden-essigsäure-äthylester

↓ + $CH_3 . C_6H_4 . NH . MgJ$

$R-CO-NH-C_6H_4-CH_3$ β-Jonyliden-essigsäure-o-toluidid

↓ + $PCl_5$

$R-\underset{Cl}{C}=N-C_6H_4-CH_3$ Imidchlorid

↓ + $CrCl_2$

$R-CH=N-C_6H_4-CH_3$ Schiffsche Base

↓

(Trimethylcyclohexenyl-ring) $C-CH=CH-\underset{CH_3}{C}=CH-CHO$ β-Jonyliden-acetaldehyd ⟶ + $(H_3C)_2C=CH-CHO$ → β-Methyl-crotonaldehyd

38) Ber. **70**, 853 (1937).

39) J. chem. Soc. London **1937**, 755.

$$(H_3C)_2C\langle \ldots \rangle C-CH=CH-C(CH_3)=CH-CH=CH-C(CH_3)=CH-CHO$$

(Ring: $H_2C$, $H_2C$, $CH_2$, $C-CH_3$)

β-Jonylidenmethylhexadienal

→ + Aluminiumisopropylat →

$$(H_3C)_2C\langle \ldots \rangle C-CH=CH-C(CH_3)=CH-CH=CH-C(CH_3)=CH-CH_2OH$$

(Ring: $H_2C$, $H_2C$, $CH_2$, $C-CH_3$)

Vitamin A

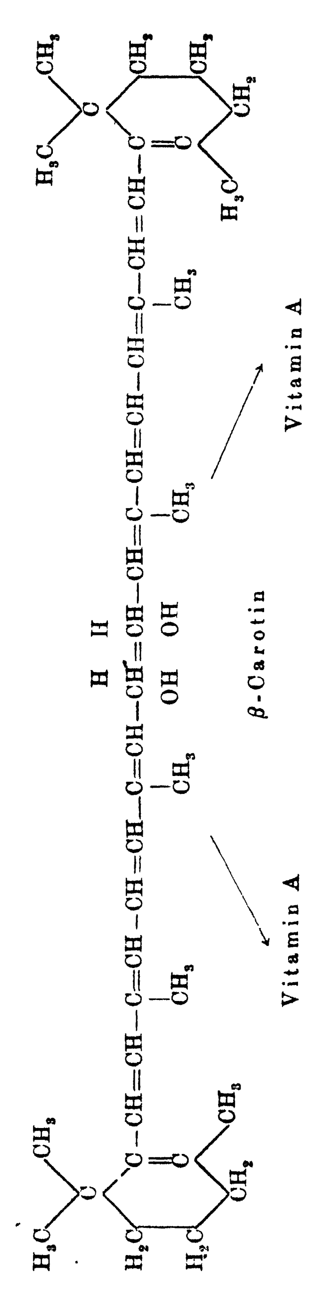
Aus der Konstitution des A-Vitamins wird die Bildung von 1,6-Dimethylnaphthalin bei der Dehydrierung erklärlich[40]:

1,6-Dimethylnaphthalin ($CH_3$–C, CH, HC, C, CH, HC, C, C–$CH_3$, CH, CH) ←—— Vitamin A ($H_3C$, $CH_3$, C, CH, $H_2C$, C, CH, $H_2C$, C–$CH_3$, C–$CH_3$, $CH_2$, CH, $CH=CH-C(CH_3)=CH-CH_2OH$)

Die Umwandlung von Carotin in Vitamin A, die in der Leber vor sich geht, kann man sich so vorstellen, daß 1 Mol. β-Carotin unter Einlagerung von 2 Mol. Wasser in 2 Mol. Vitamin A zerfällt. Nun ist es auch klar, warum gerade das β-Carotin mit seinem symmetrischen Bau die größte physiologische Wirksamkeit besitzt, während α- oder γ-Carotin, bzw. Kryptoxanthin, nur halb so wirksam sind: Das β-Carotin allein zerfällt in genau zwei gleiche Hälften, von denen jede für sich das Vitamin A darstellt, während die anderen Carotine, bzw. Kryptoxanthin, nur zu einer Hälfte Vitamin A geben können. Die anderen Hälften dieser Provitamine geben Körper, die chemisch vom Vitamin A mehr oder weniger verschieden sind. Gerade beim A-Vitamin aber

[40]) J. M. Heilbron, Morton und Webster, Biochem. J. **26**, 1194 (1932).

hat es sich gezeigt, daß die geringsten Veränderungen in seinem Bau zu unwirksamen Körpern führt.




Chemische und physikalische Eigenschaften: Vitamin A ist bei gewöhnlicher Temperatur ein schwach gelbliches, viskoses Öl, das in reinstem Zustand, der durch Chromatographie erreicht wird, durch Unterkühlen krystallisiert. Die Krystalle schmelzen bei 7,5 bis 8°[41]). Es läßt sich in reinstem Zustande im Vakuum von 0,00001 mm bei 137—138° unzersetzt destillieren[42]). Es zeigt keine optische Aktivität. In Wasser unlöslich, löst sich Vitamin A leicht in fetten Ölen und in Methylalkohol, Benzol, Äther, Chloroform, Aceton und Petroläther. Gegen Luftsauerstoff sehr empfindlich, wird es im Luftstrom bei 120° in 4 Stunden zerstört. Unter Luft- und Lichtausschluß und bei tiefen Temperaturen ist es gut haltbar. Ultraviolettes Licht zerstört schnell. Die charakteristischen Absorptionsbanden sind in Tabelle 12 zusammengestellt (E = Extinktionskoeffizient).

Mit Antimontrichlorid in Chloroform gibt das Vitamin A eine sehr charakteristische Blaufärbung, die ihren optischen Schwerpunkt bei 620 m$\mu$ hat. Die Methode gestattet eine quantitative Bestimmung des Vitamins und soll im Abschnitt über die Nachweismethoden genauer beschrieben werden.

Der stark ungesättigte Charakter des Vitamins A bringt es mit sich, daß es sehr reaktionsfähig ist. So ist es besonders gegen alle Oxydationsmittel sehr empfindlich, besonders bei höheren Temperaturen. Dies ist die Ursache seiner schon früh beobachteten „Kochempfindlichkeit". Bei Ausschluß von Sauerstoff kann es

[41]) H. N. Holmes und R. E. Corbet, J. amer. chem. Soc. **59**, 2042 (1937).

[42]) F. H. Carr und W. Jewell, Nature **131**, 92 (1933).

Tabelle 12

| Lösungsmittel | Alkohol | Petroläth. (60—80°) | Benzin | Chloroform |
|---|---|---|---|---|
| Lage der Banden mμ . . | 325 | 325 | 331 | 331 |
| E 1% je cm . . . . . | 2 100 | 1 900 | 1 740 | 1 740 |

jedoch, unbeschadet seiner Wirksamkeit, längere Zeit auf 120° erhitzt werden. Sauerstoffüberträger schädigen das Vitamin sehr schnell, so sind z. B. Peroxyde oder peroxydbildende Öle, aber auch Ferrichlorid imstande, das Vitamin sofort zu zerstören. Als Antioxydantien werden Lezithin, Hydrochinon und Chinhydron empfohlen[43]). Olivenöl, Sesamöl und Erdnußöl sind als Lösungsmittel gut geeignet, da sie keine peroxydbildenden Bestandteile enthalten.

Ozon und Wasserstoffsuperoxyd zerstören das Vitamin unmittelbar. Durch die Einwirkung von Halogenen und durch Hydrierung wird die physiologische Wirkung ebenfalls vernichtet. Schwache Säuren und Alkalien lassen das Vitamin unverändert, vorausgesetzt, daß dabei der Luftsauerstoff ausgeschaltet ist.

Als Alkohol vermag das Vitamin A eine Anzahl von Estern zu bilden, die physiologisch wirksam sind. Sie sind krystallin und bilden bei der Verseifung das reine Vitamin zurück. Der Palmitinsäureester soll im Leberöl von Stereolepis ishinagi natürlich vorkommen. Nach neueren Forschungen soll natürliches Vitamin A stets als Ester vorliegen, die an und für sich wirksamer sein sollen als das freie Vitamin.

Tabelle 13

| Ester des Vitamins A | Eigenschaften |
|---|---|
| 1. β-Naphthoesäure-ester[44]) . . . . . | Rhombische Krystalle; Schmp. 76°; unlösl. Petroläther, lösl. Methylalkohol |
| 2. Anthrachinon-β-carbonsäure-ester[44]) . | Krystalle. Schmp. 124°. Unlösl. Petroläther, lösl. Methylalkohol |
| 3. Benzoesäure-ester[45]) . . . . . . | Öl. Sdp. 188—198° (0,00001 mm) |
| 4. Maleinsäure-ester[44])[46]) . . . . . . | Krystalle. Schmp. 247°. Acetat: Schmp. 261°. Benzoat: Schmp. 264°. |
| 5. Citraconsäure-ester[44])[46]) . . . . . | Krystalle. Schmp. 207°. |

[43]) H. N. Holmes und Mitarb., Ind. Eng. Chem. 28, 133 (1936).
[44]) H. S. Hamana, J. agr. chem. Soc. Jap. 11, 341 (1935).
[45]) J. M. Heilbron und Mitarb., Biochem. J. 26, 1178 (1932).
[46]) Z. Nakamiya, Bull. Inst. Physic. Chem. Res. Tokyo 13, 3 (1934).

Physiologische Wirksamkeit: Die aktive Dosis beträgt 0,3—0,5 $\gamma$ per Tag. Als Standard-Vitamin-A gilt das reinste, aus Brennnesselblättern dargestellte $\beta$-Carotin. 0,6 $\gamma$ $\beta$-Carotin bilden 1 Internationale Einheit. Man mißt das Vitamin A sehr häufig nach sog. CLO-Einheiten, d. h.: Cod-liver-oil-Einheiten. 1 I.E. sind = $^{1}/_{208}$ CLO-E. 1 CLO-E. entspricht etwa 125 $\gamma$ $\beta$-Carotin oder 208 I.E.

Während eine Überdosierung bei der Ratte schwere Schädigungen nach sich zieht, sind solche Hypervitaminosen A beim Menschen noch nicht beobachtet worden. Über den Wirkungsmechanismus des Vitamins A im Organismus ist mit Sicherheit nichts bekannt.

Nachweis[47]): Vitamin A läßt sich durch Messung der Eigenabsorption im Bereiche von 330 m$\mu$ verhältnismäßig gut bestimmen, wobei allerdings eine Reihe von Fehlerquellen zu beachten sind.

Als geeignetste Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung des Vitamins A hat sich die schon erwähnte Blaufärbung erwiesen, die entsteht, wenn zu einer Lösung des Vitamins in Chloroform eine gesättigte Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform gegeben wird. Nach F. H. Carr und E. A. Price[48]) wird diese Reaktion folgendermaßen ausgeführt: Reines Chloroform wird mit Wasser gut ausgeschüttelt und dann über geglühter Pottasche getrocknet. Das Chloroform wird destilliert, wobei die ersten 10% verworfen werden. Dabei ist Lichtzutritt zu vermeiden. Das Antimontrichlorid wird mit dem reinen Chloroform gewaschen und dann über Schwefelsäure getrocknet. Aus den beiden reinen Bestandteilen wird bei 20° eine gesättigte Lösung hergestellt, die etwa 22% $SbCl_3$ enthält. Sie ist in braunen Flaschen mit Glasverschluß etwa 4 Wochen haltbar. Peinlichste Sauberkeit vor Verunreinigung mit Wasser ist Vorbedingung.

2 g des zu untersuchenden Lebertrans usw. werden genau abgewogen und im Meßkolben mit reinem Chloroform auf 10 ccm aufgefüllt. Man gibt 0,2 ccm dieser Lösung in den 10-mm-Trog des Kolorimeters. Nach Einsetzen der Küvette in den Apparat gibt man 2 ccm der $SbCl_3$-Lösung zu und rührt mit einem Glaßstab gut um. Die folgende Ablesung muß sehr schnell erfolgen, da die Farbtiefe nach 10 Sekunden ein Maximum erreicht.

In der beschriebenen Weise muß ein guter Lebertran einen Wert von 10 Blaueinheiten geben. Nach Rosenheim-Webster[49]) ist

---

47) Weitere Methoden siehe F. Gstirner, Chemische Vitamin-Bestimmungs-Methoden, Stuttgart, F. Enke 1939.

48) Biochem. J. 20, 497 (1926).

49) Lancet 2, 806 (1926); Biochem. J. 20, 1342 (1926).

dieser Wert gleich 1 CLO-E. Sie ergibt sich aus der Beziehung $\frac{\text{20mal abgelesene Blaueinheiten}}{\text{mg der Substanz im ccm}}$. Die Ablesung erfolgt mit der Stoppuhr, am besten immer nach 30 Sekunden. Als Lichtquelle dient eine 40-Watt-Osram-Nitra-Milchglaslampe für 220 Volt, deren Licht durch einen Milchglasreflektor reflektiert wird.

Es kann jedes beliebige Kolorimeter verwendet werden. Gewöhnlich wird die Reaktion in dem Lovibond-Tintometer von Rosenheim und Schuster[50]) ausgeführt. Es besteht aus einem Okular, hinter dem zwei Öffnungen angebracht sind. Vor die eine Öffnung kommt die Küvette mit der zu untersuchenden Lösung, vor die andere werden solange standardisierte Gläser in Rot, Gelb und Blau gesetzt, bis beide Farbtöne übereinstimmen. Der Blauwert ergibt sich durch Addition der vorgehaltenen Blaugläser, deren jedes eine Kennzahl trägt. Gelb und Rot werden nicht berücksichtigt.

An Stelle des sehr teuren Lovibond-Tintometers verwenden Brockmann und Tecklenburg[51]) einen Satz von Kupfersulfatlösungen verschiedener Konzentration, die nach Lovibond-Einheiten geeicht sind. Auch das Stufenphotometer von Zeiß hat sich sehr gut bewährt. Die blaue Farbe der Antimonreaktion zeigt dabei die größte Absorption zwischen 550 und 600 m$\mu$.

Die Methode erfordert viel Kritik, da sie mit vielen Fehlerquellen behaftet ist. Vor allem aber ist die Reaktion an sich für Vitamin A nicht spezifisch. Verschiedene chemisch ganz anders gebaute Körper geben diese Reaktion ebenfalls. Es wurde daher empfohlen, die Trane erst zu verseifen und in den dabei konzentrierten und gereinigten Präparaten das Vitamin A zu bestimmen. Besonders störend wirken sich Carotinoide aus, die die gleiche Reaktion geben, aber durch die verschiedene Lage der Absorptionsbanden eine Differenzierung gestatten.

Anders liegen die Verhältnisse bei Substanzen, welche die Reaktion an und für sich verhindern oder stören. So kommt im Lebertran eine ungesättigte Säure vor, welche schon in kleinsten Mengen die Reaktion hindert. Im allgemeinen geben aber Substanzen, die von solchen Beimengungen gereinigt sind, Resultate, die sich mit den aus den Tierversuchen gewonnenen vollkommen decken.

[50]) Biochem. J. **21**, 1329 (1927).
[51]) Z. physiol. Chem. **221**, 117 (1933).

### Vitamin $A_2$

Dieses Vitamin wurde erst in jüngster Zeit auf Grund seines spektroskopischen Verhaltens entdeckt[52]). Als Begleiter des Vitamins A spielt es besonders in den Süßwasserfischen eine Rolle. Chemisch ist über das Vitamin $A_2$ noch sehr wenig bekannt. Es unterscheidet sich vom Vitamin A in leicht erkennbarer Weise durch seine Absorptionsbanden, die bei 345—350 und bei 285 m$\mu$ liegen.

Aus der Lage des Absorptionsmaximus läßt sich mit einiger Wahrscheinlichkeit etwas über den Bau des Vitamin-$A_2$-Moleküls schließen. Es dürfte eine weitere Doppelbindung in Konjugation enthalten, also 6 statt 5 wie beim Vitamin A. Diese 6. Doppelbindung könnte eigentlich nicht im endständigen Ring liegen, da das Vitamin $A_2$ bei der Ozonisation in gleicher Ausbeute wie Vitamin A Geronsäure gibt. (Vgl. dagegen unten die Ansicht von Gray.)

Der optische Schwerpunkt der Antimontrichloridreaktion liegt beim Vitamin $A_2$ etwas langwelliger als beim Vitamin A, nämlich bei 693 bis 697 m$\mu$. Eine weitere, schwer erkennbare Bande liegt bei 645 bis 650 m$\mu$. Die Extinktion $E^{1\%}_{1\,cm}$ (693) beträgt etwa 5000.

Gray[53]) gibt dem Vitamin $A_2$ auf Grund neuerer Forschungen die Zusammensetzung $C_{20}H_{28}O$ und hält folgende Formel für wahrscheinlich:

```
H3C    CH3
   \  /
    C
   / \
H2C    C—CH=CH—C=CH—CH=CH—C=CH—CH2OH
 |     ‖        |             |
HC     C       CH3           CH3
  \\  / \
   CH    CH3
```

Demnach würde sich die 6. Doppelbindung im Iononring befinden.

## Darstellung und Synthese des Vitamins A

Die besten Quellen für die Reindarstellung des Vitamin A sind die Leberöle von Heilbutt (Hippoglossus hippoglossus), Makrele (Sombresox saurus), Steinbutt (Rhombus maximus) und Stereolepis ishinagi. Das Vitamin scheint hier als Ester vorzuliegen. Die Organe werden mit

[52]) E. Lederer, Nature **140**, 233 (1937); J. R. Edisbury, Nature **140**, 294 (1937).

[53]) Gray, J. biol. Chem. **131**, 317 (1939).

niedrig siedendem Petroläther extrahiert und die Extrakte mit 12proz. alkoholischen Kali eine Stunde auf 60° erwärmt. Dieser Vorgang muß in Stickstoffatmosphäre erfolgen. Die Seife wird mit niedrig siedendem Petroläther extrahiert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wird in heißem Methylalkohol gelöst und die Lösung mehrere Stunden bei — 15° aufbewahrt. Die auskrystallisierten Sterine werden aus der gekühlten Lösung durch Filtration entfernt. Das Filtrat wird eingeengt, erneut abgekühlt und die ausgeschiedenen Sterine abfiltriert. Nach Zusatz von etwas Wasser wird mit Petroläther ausgeschüttelt, der Petroläther verdampft und das gelbe Öl mit etwas Methylalkohol aufgenommen. Diese Lösung wird mit Kohlensäureschnee auf — 60° abgekühlt und die ausgeschiedenen Flocken durch Zentrifugieren entfernt. Die Lösung wird wieder mit Wasser versetzt und mit Petroläther extrahiert. Nach dem Trocknen des Äthers kann durch chromatographische Adsorption an Aluminiumoxyd oder durch Destillation im Hochvakuum (0,00001 mm bei 137—138°) weiter gereinigt werden. Schließlich krystallisiert das Vitamin in gelben Nadeln.

Technische Bedeutung kann man den reinen Vitamin-A-Präparaten nicht geben, da schon die Konzentrate recht gute Eigenschaften zeigen und viel billiger herzustellen sind. Eine Trennung von dem Vitamin $D_3$ ist in den meisten Fällen unnötig, ja nicht einmal erwünscht. Es ist sogar erwiesen, daß eine Vitamin-A-Zufuhr ohne genügende Mengen von Vitamin D eher schädigend wirkt.

Im allgemeinen genügen für die Technik die aus Lebertran hergestellten Konzentrate, wie sie im Abschnitt über die Technik der Lebertrangewinnung beschrieben wurden (S. 52ff.).

Nach dem Engl. Pat. 306 881 kann man das Vitamin A in den unverseifbaren Anteilen aus Leberölen usw. in Methylalkohol, Aceton, Alkohol oder Essigester lösen und mit Desoxycholsäure verbinden, worauf durch Zusatz von Wasser die Verbindung ausgefällt wird. Es wird erwärmt, wobei die Verbindung in Lösung geht. Beim Abkühlen scheidet sie sich krystallin ab. Durch Destillation im Hochvakuum oder durch Erhitzen in Xylol wird das freie Vitamin gewonnen.

Das DRP. 612 369 beschreibt ein Verfahren zur fraktionierten Ausfrierung des Vitamins aus Lösungen in Aceton oder Methylalkohol. Der unverseifbare Anteil von Heilbuttlebertran wird in 100proz. Methylalkohol gelöst und diese Lösung in eine Kältemischung von fester Kohlensäure und Aceton gebracht. Der dabei ausfallende Niederschlag 1 wird bei — 50 bis — 60° über einer Schicht fester Kohlensäure abfiltriert. Zum Filtrat gibt man darauf soviel Wasser, daß eine 90proz.

Methanollösung entsteht und kühlt diese Lösung wieder in der Kältemischung ab. Der entstandene Niederschlag 2 wird wie oben in der Kälte filtriert und das Filtrat wieder mit 10% Wasser versetzt. Der ausfallende Niederschlag 3 wird wieder filtriert und erneuter Zusatz von 15% Wasser gibt Niederschlag 4. Niederschlag 5 wird dann durch größeren Wasserzusatz zum Filtrat und Extraktion der Mischung mit Petroläther erhalten. Die Niederschläge 3—5 werden in Petroläther gelöst, filtriert und der Petroläther im Vakuum verdampft. Es hinterbleiben hellgelbe Öle, die ungefähr die Hälfte der verwendeten Substanz ausmachen. Die Öle sind hochaktiv.

Synthese nach R. Kuhn und Mitarb., Ber. 70, 856 (1937): 100 g $\beta$-Ionon und 100 g Bromessigsäureäthylester werden in 220 g thiophenfreiem Benzol gelöst und am Rückflußkühler zum Sieden gebracht. Man gibt 50 g Zink in kleinen Anteilen durch den Kühler zu und hält nach vollendeter Reaktion noch 3 Stunden in schwachem Sieden. Die erkaltete Zinkverbindung zersetzt man mit 10proz. Essigsäure und schüttelt die Flüssigkeit mit Petroläther aus. Die Petroläther-Benzollösung wird mit 1proz. Essigsäure, mit Wasser und mit Bicarbonatlösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren der Lösungsmittel wird der unveränderte Bromessigester durch Erhitzen auf 170° verjagt. Der Rückstand wird im Vakuum destilliert. Ausbeute 120 g.

Aus 35 g Methyljodid und 5,9 g Magnesium wird in 180 ccm Äther eine Grignardlösung hergestellt, zu der man bei 0° 25,5 g o-Toluidin in 50 ccm Äther zutropfen läßt. Man nimmt aus dem Eis und tropft 32 g von dem vorstehend gewonnenen $\beta$-Ionyliden-essigsäure-äthylester in 50 ccm Äther zu. Nach vollendeter Umsetzung wird mit eiskalter n/10-Salzsäure vorsichtig zersetzt. Die Ätherschicht wird mit n/10-Salzsäure, Wasser, n/20-Sodalösung und nochmals mit Wasser gewaschen, schließlich unter Stickstoff mit Natriumsulfat getrocknet und abdestilliert. Ausbeute 41 g.

21 g $\beta$-Ionyliden-essigsäure-o-toluidid werden in 50 ccm Benzol mit 13,6 g Phosphorpentachlorid bei 0° versetzt und dadurch in das Imidchlorid umgewandelt. Nach dem Abdestillieren des Benzols wird in 30 ccm Äther gelöst. Man stellt aus 55 g frisch bereitetem krystallwasserhaltigem Chromoacetat, 19 g Chlorwasserstoff und 250 ccm Äther eine Chromochloridsuspension her und läßt sie unter Stickstoff obiger Ätherlösung zutropfen. Nach $1^1/_2$stündigem Rühren ist die Reaktion beendet. Man schüttelt mit Wasser durch und dampft den Äther im Stickstoff ab. Der rohe Aldehyd wird mit 100 ccm 10proz. Oxalsäure-

lösung überschichtet und unter Kohlendioxyd der Wasserdampfdestillation unterworfen. Ausbeute 3,9 g.

3,9 g $\beta$-Ionyliden-aldehyd werden zu einem Gemisch von 0,05 g Piperidin und 0,05 g Eisessig in 0,5 ccm Alkohol gegeben und unter reinem Stickstoff mit 1,5 g $\beta$-Methyl-crotonaldehyd tropfenweise im Laufe von einer Stunde versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit Äther verdünnt, das Piperidin mit verdünnter Salzsäure entfernt und dann mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen. Die ätherische Lösung des neugebildeten Aldehyds wird unter Stickstoff mit Natriumsulfat getrocknet, der Äther abgedampft und der Rückstand in 75 ccm Isopropylalkohol gelöst. Man fügt bei 110° (Badtemperatur) 2 g Aluminiumisopropylat zu und erhöht die Temperatur auf 120°, wobei der Isopropylalkohol überdestilliert. Man läßt noch dreimal etwa 30 ccm Isopropylalkohol zulaufen, bis der abdestillierende Alkohol keine Acetonreaktion mehr gibt. Der abgekühlte Rückstand wird in Petroläther gelöst und mit 2-n-Phosphorsäure geschüttelt. Die wäßrige Schicht wird nochmals mit Petroläther ausgezogen und die vereinigten Petrolätherauszüge mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Ausbeute 2,6 g.

## II. Phenole der Chromanreihe

### Vitamin E (Tocopherole)

Allgemeines:

Den ersten Anhaltspunkt für die Existenz eines für die normale Fortpflanzung notwendigen Vitamins fanden H. A. Mattill und R. E. Conklin[1]) im Jahre 1920. Sie fanden, daß Ratten, die nur mit Milch gefüttert wurden, trotz guten Wachstums und guten Aussehens gewöhnlich steril waren. In der Folge kamen H. M. Evans und S. Bishop[2]) zu der Feststellung, daß eine Kost, welche die Vitamine A, B und D enthält und reich ist an den andren unentbehrlichen Nährstoffen, bei Ratten zu einer teilweisen Unfruchtbarkeit in der ersten Generation führt, daß aber die zweite Generation ganz unfruchtbar wird. Diese Sterilität wird geheilt durch eine noch unbekannte Substanz, die sich im Weizenkeimlingsöl, in frischem Salat oder Alfalfaheu findet. Evans und Bishop[3]) erkannten diese Substanz als fettlöslich, aber als verschieden von den bisher bekannten fettlöslichen

---

[1]) J. biol. Chem. **44**, 137 (1920).
[2]) Science **56**, 650 (1922).
[3]) Amer. J. Physiol. **63**, 396 (1923).

Vitaminen A und D. Der für die Fortpflanzung wichtige neue Faktor erhielt von B. Sure[4]) den Namen Vitamin E.

Während die Erforschung der anderen Vitamine schnelle Fortschritte machte, blieben die Ergebnisse über das neue Vitamin längere Zeit ohne besondere Bedeutung. Erst später (1934) sind die älteren Befunde in neuaufgenommenen Arbeiten von Evans und Olcott[5]) bestätigt worden. Es wurden hochaktive Extrakte aus Weizenkeimlingsöl hergestellt und klinisch geprüft[6]). Genauere Angaben über Vorkommen, Eigenschaften und Gewinnung von hochkonzentrierten Extrakten wurden von J. C. Drummond und Mitarb.[7]) gemacht. Im Jahre 1936 gelang Evans und Emerson[8]) zum ersten Male die Reindarstellung des Vitamins E. Man gab den beiden Isomeren, aus denen das Vitamin sich zusammensetzt, die Bezeichnung α- und β-Tocopherol. In rascher Folge wurde nun, besonders von E. Fernholz[9]), die Konstitution des Vitamins E erforscht und durch die von Karrer[10]) und seinen Mitarb. durchgeführte Synthese im Jahre 1938 gekrönt.

Man kennt heute eine ganze Anzahl von ähnlich gebauten Stoffen, die wie das Vitamin E wirken, aber schwächer. Sie sind synthetisch hergestellt worden. Die Reindarstellung der Vitamine E und verschiedener synthetischer Isomerer wird auch die Bedeutung des Vitamins für den menschlichen Organismus, die heute noch umstritten ist, eindeutig klären.

Vorkommen: Das Vitamin E gehört mit zu den verbreitetsten Vitaminen überhaupt. Es kommt sowohl in tierischen als auch in pflanzlichen Materialien vor. Allerdings ist es oft nur in sehr kleinen Mengen in den Organen enthalten und schwer in reinem Zustande darstellbar. Vitamin-E-haltig sind die meisten Gemüse, fetten Öle, Milch, besonders aber die Embryonen der Getreidekörner und hier vor allem Weizenkeimlinge. Es kommt reichlich noch in Hafer, Gerste, Baumwollsamenöl und Reisöl vor. Trocknen der Vitamin-E-haltigen Pflanzen schadet dem Vitamin nicht, so daß Heu, getrocknete Weizen- oder Gerstenkeimlinge und Trockengemüse noch ziemliche Mengen des Vitamins enthalten.

---

[4]) J. biol. Chem. **58**, 681, 693 (1923).
[5]) H. M. Evans und H. S. Olcott, J. biol. Chem. **107**, 471 (1934).
[6]) E. Gierhake, 93. Vers. Dtsch. Naturf. u. Ärzte, Berlin **1934**, 44.
[7]) Biochem. J. **29**, 456 (1935).
[8]) H. M. Evans und O. H. Emerson, J. biol. Chem. **113**, 319 (1936).
[9]) J. amer. chem. Soc. **60**, 700 (1938).
[10]) P. Karrer, H. Fritzsche, B. H. Ringier und H. Salomon, Helv. chim. acta **21**, 520 (1938).

Tierische Organe enthalten wechselnde Mengen des Vitamins. Der Gehalt ist weitgehend von der Nahrung abhängig. Es ist bisher nicht erwiesen, daß der frische Organismus Vitamin E synthetisieren kann. Es ist deshalb anzunehmen, daß alles Vitamin E, das sich in Eidotter, tierischen Fetten und Ölen, Plazenta und Hypophysenvorderlappen sowie in der Leber findet, aus der pflanzlichen Nahrung stammt. Der tierische Organismus besitzt die Fähigkeit, das Vitamin E in ziemlichem Ausmaße und für längere Zeit zu speichern. Interessant ist die Tatsache, daß Pflanzen und tierische Organe, die vollkommen frei von Carotinoiden sind, auch kein Vitamin E enthalten. Dagegen sind Honig und Blütenstaub frei von Vitamin E. Bierhefe enthält nur sehr geringe Mengen. Im allgemeinen enthalten tierische und pflanzliche Fette und Öle um so weniger Vitamin E, je mehr sie der Autoxydation unterliegen. Die Ursache dafür ist die Zerstörung des Vitamins durch die Peroxyde der ranzigen Fette und Öle, die aber durch Zusatz von Antioxydantien (Hydrochinon) ausgeschaltet werden kann.

Die Tabelle 14 gibt eine Übersicht über das Vorkommen des Vitamins E. Relative E-Aktivität = 100 : sterilitätsverhütende Mindestdosis in Gramm.

Tabelle 14

| Material | Relative E-Aktivität |
|---|---|
| Gemüse, frischer Salat | 40 |
| Brunnenkresse | 50 |
| Trockengemüse | 300 |
| Alfalfaheu | 100 |
| Erbsen | 25 |
| Erdnüsse, roh | 100 |
| Bananen | 3 |
| Weizenkeime, getrocknet | 400 |
| Weizenkeimöl | 1400 |
| Trockengemüseöl (Ätherextrakt) | 3000 |
| Hefe | 0—20 |
| Baumwollsamen | 100 |
| Palm- und Leinöl | 50—100 |
| Rindsmuskel | 20 |
| Rindsleber | 10 |
| Pankreas, Milz | 25 |
| Schweinefett | 20 |
| Eidotter | 17 |
| Plazenta | 25—100 |
| Hypophysenvorderlappen | 25—100 |
| Milch | 0—5 |

Konstitution: Im Jahre 1935 stellte Riang- Ha Kimm[11]) aus Reiskeimlingsöl ein gereinigtes Vitamin-E-Präparat her, das er durch

[11]) C. 1936 I, 1188.

Erhitzen mit $\beta$-Naphthoylchlorid in zwei krystallisierende Fraktionen zerlegte. Die bei 168° schmelzende Fraktion war inaktiv, dagegen zeigte die bei 156° schmelzende, in langen Nadeln krystallisierende Fraktion Vitamin-E-Wirkung. Kimm schloß aus der Formel dieses Naphthoats, daß dem Vitamin E die Bruttoformel $C_{29}H_{48}O$ zukommen müsse.

Evans[12]) und Mitarb. stellten im folgenden Jahre aus Weizenkeimöl ein Vitamin E her, aus dem sie zwei krystallisierende Allophanate isolieren konnten. Eines dieser Allophanate schmolz bei 158 bis 160°. Es gab nach der Hydrolyse ein Öl, das eine Hydroxylgruppe enthält. Es war in Dosen von 3 mg an der Ratte wirksam. Die Autoren gaben diesem Körper den Namen $\alpha$-Tocopherol, dem zweiten, weniger wirksamen, die Bezeichnung $\beta$-Tocopherol. Für den nach der Verseifung erhaltenen reinen Alkohol fanden die Autoren die Zusammensetzung $C_{29}H_{50}O_2$.

Fernholz[13]) erhielt aus $\alpha$-Tocopherol durch Erhitzen auf 350° einen krystallisierten Körper, den er als Duro-hydrochinon erkannte. Der phenolische Charakter der Hydroxylgruppe, die durch Veresterung nachweisbar ist, ist auch aus Spektralmessungen und dem Verhalten gegenüber Oxydationsmitteln zu beweisen.

Duro-hydrochinon — Iso-pseudo-cumenol

Bei der Spaltung mit Jodwasserstoff wird das Iso-pseudo-cumenol[14]), erhalten. Durch gelinde Oxydation mit Chromsäure entsteht ein Lacton $C_{21}H_{40}O_2$, das nach Fernholz das $\gamma$-Lacton eines tertiären Alkohols darstellt. Bei energischer Oxydation mit Chromsäure bilden sich neben Dimethyl-maleinsäure, Diacetyl und Aceton ein Keton $C_{18}H_{36}O$ und eine Säure $C_{16}H_{32}O_2$, die 3 C-Methylgruppen enthält, was auf einen Aufbau aus Isoprenresten schließen läßt. Solche isoprenartige Seitenketten sind bei Naturstoffen nicht selten.

---

[12]) H. M. Evans, O. H. Emerson und G. A. Emerson, J. biol. Chem. **113**, 319 (1936).

[13]) E. Fernholz, J. amer. chem. Soc. **60**, 700 (1938).

[14]) W. John, Z. physiol. Chem. 252, 208 (1938).

Lacton $C_{21}H_{40}O_2$ $\xrightarrow{CrO_3}$ $OC—C_{16}H_{33}$ / $CH_3$ Keton $C_{18}H_{36}O$ $\xrightarrow{CrO_3}$ $OC—C_{15}H_{31}$ / $OH$ Säure $C_{16}H_{32}O_2$

Dimethylmaleinsäure — Diacetyl — Aceton

Die Art der Verknüpfung der Seitenkette mit dem Benzolkern ist daran zu erkennen, daß $\alpha$-Tocopherol ein einwertiges Phenol ist und das 2. Sauerstoff-Atom die chemische Indifferenz eines

$\alpha$-Tocopherol $C_{29}H_{50}O_2$

Oxydation $\xrightarrow{}$ $AgNO_3$

Reduzierende Acylierung

Äther-Sauerstoffs besitzt. Die thermische Spaltung und die Zerlegung mit Jodwasserstoff zeigen, daß die Seitenkette außerdem noch durch eine C-C-Bindung mit dem Benzolkern verknüpft ist, wobei einmal der gesamte Rest abgespalten wird (mit HJ), das andere Mal aber eine $CH_3$-Gruppe im Benzolkern verbleibt. Bei der Oxydation mit Silbernitrat und der anschließenden reduzierenden Acylierung mit p-Brombenzoesäure entsteht eine tertiäre, nicht zu einer Ketongruppe oxydierbare Hydroxylgruppe. Es besteht daher nur die Möglichkeit eines Chromansystems (Formel S. 102 unten).

Diese, erstmalig von Fernholz[13]) aufgestellte Konstitutionsformel des $\alpha$-Tocopherols wurde von P. Karrer[10]) durch Synthese bewiesen: Trimethyl-hydrochinon und Phytylbromid bzw. Phytol vereinigen sich bei höheren Temperaturen in Gegenwart von wasserfreiem Zinkchlorid in guter Ausbeute zu $\alpha$-Tocopherol.

$CH_3$, HO, H, Br, $CH_2$, CH, $H_3C$, OH, $CH_3$

$C^*-(CH_2)_3-CH-(CH_2)_3-CH-(CH_2)_3-CH(CH_3)_2$ (mit $CH_3$ an C*, CH, CH)

Trimethyl-hydrochinon + Phytylbromid

-HBr →

$CH_3$, HO, $CH_2$, $CH_2$, $H_3C$, O, $CH_3$

$C^*-(CH_2)_3-CH-(CH_2)_3-CH-(CH_2)_3-CH(CH_3)_2$ (mit $CH_3$ an C*, CH, CH)

Die synthetische Verbindung ist ein Racemat, da das asymmetrische C-Atom C* erst bei der Synthese gebildet wird. Durch Veresterung mit 3-Brom-d-camphersulfo-chlorid und Umkrystallisieren wurde ein Ester erhalten, der mit dem 3-Brom-d-camphersulfonsäureester des natürlichen $\alpha$-Tocopherols in chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften vollkommen übereinstimmt.

$\beta$-Tocopherol: Dieses zweite natürliche E-Vitamin aus Weizenkeimöl ist noch nicht so genau untersucht wie das $\alpha$-Toco-

pherol. Die Konstitution ist aber sichergestellt. Es stellt nach John[14]) das nächst niedere Homologe des α-Tocopherols dar, indem die Summenformel um ein $CH_3$ niedriger ist und sich durch das Fehlen einer $CH_3$-Gruppe im Kern vom α-Tocopherol unterscheidet. John[14]) erhielt durch thermischen Abbau aus β-Tocopherol Pseudo-cumo-hydrochinon, so daß dem β-Tocopherol folgende Formel zukommt:

Pseudo-cumo-hydrochinon

β-Tocopherol, $C_{28}H_{48}O_2$

Diese Formel konnte von A. R. Todd[15]) durch die Synthese des β-Tocopherols bewiesen werden. Er kondensierte p-Dimethyl-hydrochinon als Monobenzoesäure-ester mit Phytylbromid unter bekannten Bedingungen und erhielt ein synthetisches β-Tocopherol, das sich in allen seinen Eigenschaften und in denen seiner Ester mit dem natürlichen β-Tocopherol und seinen Estern als identisch erwies.

+ Phytylbromid ⟶ β-Tocopherol

p-Dimethyl-hydrochinon

Eigenschaften: Die Eigenschaften der reinen Vitamin-E-Präparate sind nahezu dieselben wie die der einzelnen Isomeren allein. Im folgenden sollen daher die Eigenschaften der aus Naturstoffen erhältlichen, reinen Tocopherol-Gemische, wie sie allgemein als Vitamin E bezeichnet werden, beschrieben werden.

Das Vitamin stellt ein orangegelbes, bei 0° erstarrendes Öl dar, mit der Jodzahl 220 und einem Brechungsindex N = 1,5009. Der Siedepunkt liegt nach Evans und Burr[16]) bei 225—230° (0,01 mm), nach

[15]) J. chem. Soc. London **1939**, 542.

[16]) H. M. Evans und Burr, J. biol. Chem. **77**, 231 (1928).

Olcott[17]) etwas tiefer bei 190—220° (0,01 mm). Charakteristisch für das Vitamin ist die ausgeprägte Absorptionsbande bei 295 bis 298 mμ. Das spez. Gewicht bei 15° C beträgt 0,953.

Vitamin E ist ein typisches fettlösliches Vitamin. In Wasser vollkommen unlöslich, ist es sehr gut löslich in Äther, Petroläther, Benzol und Chloroform. Es ist noch gut löslich in Alkohol, Aceton, Pentan. In letzterem ist es leichter löslich als Sitosterine, wodurch das Vitamin von diesen Begleitstoffen getrennt werden kann. In hochprozentigem Alkohol gut löslich, ist es in wässerigem Alkohol fast unlöslich. Als bestes Extraktionsmittel hat sich Äther erwiesen.

Das Vitamin ist sehr thermostabil und verträgt Erhitzen bis 200°, wobei der Luftsauerstoff kaum schädigend wirkt. Im Vakuum kann es ohne Schädigung auf 250° erhitzt werden. Im Autoklaven kann es bei 9 atü auf 170° erhitzt werden, ohne daß Schädigung seiner physiologischen Wirksamkeit zu beobachten ist.

Das Vitamin E ist gegen den Luftsauerstoff wenig empfindlich. Dagegen wird es in feinverteiltem Zustande bei längerer Einwirkung von Luft geschädigt. Dies gilt vor allem für kolloidale Lösungen des Vitamins. Die oxydative Zerstörung wird durch Bestrahlung, besonders durch ultraviolettes Licht, stark beschleunigt. Langwelliges Licht ist ohne Einfluß auf die Wirksamkeit.

Stärkere Oxydationsmittel, wie Ozon, Permanganat, Benzopersäure, Silbernitrat, Ferrichlorid, Brom und Chlor zerstören das Vitamin sofort. Zerstört wird es auch von Kaliumamid und Kaliumäthylat. Peroxyde in ranzigen Fetten vernichten die Wirksamkeit des Vitamins, so daß bei Verwendung von Ölen und Fetten als Lösungsmittel für das Vitamin nur solche verwendet werden dürfen, die keine Peroxyde bilden (Sesamöl, Erdnußöl). Weizenkeimöl selbst wird außerordentlich leicht ranzig. Die Zerstörung des Vitamins durch Peroxyde kann durch Zusatz von Antioxydantien (Hydrochinon) verhindert werden.

Gegen Alkalien ist das E-Vitamin bei Temperaturen bis gegen 40° ziemlich beständig. Selbst 8stündige Verseifung von Weizenkeimöl mit 20proz. alkoholischer Kalilauge ergibt bei einer Temperatur von 38° keine Schädigung des Vitamins. Bei höheren Temperaturen wird es jedoch sogar von 8proz. alkoholischer Kalilauge oder 20proz. Kaliumcarbonatlösung vollständig zerstört.

Gegen die Einwirkung von Säuren ist Vitamin E sehr beständig. Bei Zimmertemperatur wird es von 20proz. wäßriger HCl auch bei 34stündiger Einwirkung kaum angegriffen. Schwefelsäure, Bromwasser-

[17]) H. S. Olcott, J. biol. Chem. 107, 471 (1934).

stoffsäure oder alkoholische Salzsäure sind ohne Einfluß. Mit konz. Salzsäure kann es ungefährdet auf 100° erhitzt werden.

Das Vitamin kann mit Wasserstoff und Palladium bei 75° in Gegenwart von verd. Salzsäure hydriert werden. Das hydrierte Vitamin E stellt ein bei 61—64° erstarrendes Fett dar, das noch voll wirksam ist.

Acetylierung und Benzoylierung sind ohne Einfluß auf die physiologische Wirksamkeit. Das Acetat ist unempfindlich gegen den Luftsauerstoff.

d-α-Tocopherol ($C_{29}H_{50}O_2$):

Gelbes Öl. $[\alpha]_D = +30°$. Die chemischen Eigenschaften decken sich mit denen des Tocopherol-Gemisches (Vitamin E). Ebenso ist die Löslichkeit die gleiche. Derivate: Allophanat $C_{31}H_{52}O_4N_2$: Schmp. 159—160°. 2.4-Dinitrobenzoat $C_{36}H_{52}O_7N_2$: Schmp. 86 bis 87°. 3-Brom-d-camphersulfonat $C_{39}H_{63}O_4BrS$: Schmp. 48—50.

Das α-Tocopherol zeigt ein Absorptionsmaximum bei 296 mμ. Mol. Absorptionskoeffizient $K = 8{,}85 \cdot 10^3$.

d-β-Tocopherol ($C_{28}H_{48}O_2$):

Gelbes Öl. $[\alpha]_D = +7°$. Es gleicht in den Eigenschaften vollkommen dem α-Tocopherol. Von P. Karrer wurde es als „Neo-tocopherol" bezeichnet; W. John nannte es „Cumo-tocopherol". Die Bezeichnung β-Tocopherol ist geschickter und sollte beibehalten werden. Allophanat $C_{30}H_{50}O_4N_2$: Nadeln. Schmp. 147°.

Das Absorptionsmaximum liegt bei 298 mμ; Mol. Absorptionskoeffizient $K = 9{,}80 \cdot 10^3$.

Synthetisches d,l-α-Tocopherol: Gelbliches Öl. Optisch inaktiv, da Racemat. Nitrophenyl-urethan $C_{36}H_{54}O_5N_2$: Schmp. 131°; Allophanat $C_{31}H_{52}O_4N_2$: Schmp. 172°; 2.4-Dinitrobenzoat $C_{36}H_{52}O_7N_2$: Schmp. 63°.

Biologische Wirkung: Bei Vitamin-E-Mangel tritt bei Ratten eine schwere Störung in der Fortpflanzung bzw. vollkommene Unfruchtbarkeit ein. Dabei zeigen sich die Störungen bei männlichen Tieren früher als bei weiblichen. Neben deutlich verringertem Gewicht der Hoden zeigen die Spermien ein vermindertes Fortpflanzungsvermögen und es treten Mißbildungen der Spermatidenkerne auf. Die Spermien verlieren die Fähigkeit zur Befruchtung und nach 5 Monaten verschwinden die Spermien vollständig. Das germinative Gewebe, die Samenkanälchen und das Keimepithel degeneriert und nach 12 Monaten ist der Sexualtrieb

vollkommen erloschen. Werden diese Erscheinungen rechtzeitig durch Zufuhr von Vitamin E behoben, so kann die Schädigung rückgängig gemacht werden. Schwerere Schädigungen lassen sich nicht mehr beheben und die Tiere bleiben unfruchtbar.

Bei den weiblichen Tieren lassen sich im Anfangsstadium der Avitaminose keine Mangelerscheinungen feststellen; die Befruchtung und Entwicklung der Föten verläuft normal. Erst in der Mitte der Schwangerschaftsperiode tritt eine Rückbildung des Fötus ein, der abstirbt und schließlich ganz resorbiert wird. Diese Resorptionssterilität verhindert aber eine neue Befruchtung nicht, der Fötus stirbt aber wieder ab und wird in der gleichen Weise resorbiert. Die Schäden lassen sich durch Zufuhr von Vitamin E vollständig beheben.

Neben diesen Erscheinungen läßt sich ein allgemeines Zurückbleiben des Wachstums beobachten, das mit Degenerationserscheinungen des gesamten Muskelsystems verbunden ist. Neben Lähmungen der hinteren Gliedmaßen treten degenerative Veränderungen der Hypophyse auf, die auf Beziehungen zwischen Vitamin E und Hypophyse schließen lassen.

Der Vitamin-E-Bedarf der verschiedenen Tiere ist nicht gleich groß. Ratten und Mäuse brauchen das Vitamin unbedingt. Auch Insekten sind in gewissen Fällen auf das Vitamin angewiesen, so setzen die Bienen der Nahrung der Königin Vitamin E zu, nicht aber den Larven der Arbeiterbienen. Eine Bienenlarve wird erst dann zur Königin, wenn sie ausreichend mit Vitamin E gefüttert wird.

Das Vitamin E wird in Muskel, Fettgewebe und Leber gespeichert.

Für den menschlichen Organismus kommt dem Vitamin E eine gewisse Bedeutung zu zur Verhütung des habituellen Aborts. Weiter konnten die symptomlose Sterilität der Frauen, Oligospermie und sexuelle Schwäche des Mannes durch Zufuhr von Vitamin E geheilt werden. In der Tiermedizin wird es mit Erfolg bei der symptomlosen Sterilität der Tiere (Umrindern, Umrauschen, Umrossen) und bei dem sog. seuchenhaften Verwerfen verwendet. Bei Geflügel konnten große Erfolge in der Zucht durch Verfütterung von Weizenkeimöl erzielt werden.

Konstitution und biologische Wirkung: Die natürlichen E-Vitamine sind, was ihre Wirkung an der weiblichen Ratte anbelangt, nicht besonders spezifisch. Es gibt eine Reihe von einfachen Dimethyl-hydrochinon-mono- und di-äthern, die in größeren Mengen die normale Fortpflanzung der Ratte sichern. Auch andere Verbindungen ähnlicher Art wirken positiv. Es wurden viele solche Verbindungen hergestellt und auf ihre Wirksamkeit unter-

sucht. Dabei ergaben sich eine Anzahl von Gesetzmäßigkeiten, die Voraussetzung für die E-Wirksamkeit einer Verbindung sind[18]):

1. Ein Molekülskelett, das den Übergang in ein Redoxsystem mit einem innerhalb gewisser Grenzen liegenden Potential gestattet.

2. Solche Nebengruppen, die die erforderlichen Löslichkeitseigenschaften schaffen, damit die Verbindung resorbiert und im Körper transportiert werden kann.

3. Die Annahme, daß der Körper in der Lage ist, chemische Umwandlungen, wie Hydrolyse, Spaltung, Dehydrierung, Hydratation und Dehydratation, Reduktionen usw. vorzunehmen, um Verbindungen in solche mit den unter 1 und 2 genannten Eigenschaften überzuführen.

Die Länge der Seitenkette scheint für die biologische Wirksamkeit ohne Bedeutung zu sein. Der Alkohol Phytol selbst ist unwirksam, wenn er allein oder mit Trimethylhydrochinon gefüttert wird. Von den bisher dargestellten und auf ihre Wirksamkeit untersuchten Verbindungen sind solche aus der Gruppe der Chromane, Cumarane, Cumarine, Cumarone, o-Allylphenole, Chinone und Hydrochinone, Naphtochinone sowie Phenol- und Hydrochinonäther wirksam. Die bisher bekanntgewordenen, physiologisch wirksamen Verbindungen sind in der Tabelle 15 nach Gruppen zusammengestellt.

Außer dem $\alpha$- und $\beta$-Tocopherol gibt es noch ein natürliches Vitamin E, das den Namen $\gamma$-Tocopherol[19]) erhalten hat. Es kommt neben den beiden anderen Tocopherolen im Weizenkeimöl vor und kann durch chromatographische Adsorption gewonnen werden. Es gibt ebenfalls ein Allophanat. Das $\gamma$-Tocopherol ist dem $\beta$-Tocopherol isomer. Es kommt nur in sehr geringer Menge in den Gemischen vor. Es wirkt im Rattentest mit 5 mg, also wie $\beta$-Tocopherol, während $\alpha$-Tocopherol schon mit 3 mg wirksam ist. Die chemischen Eigenschaften sind die gleichen wie die der anderen Tocopherole. Es dürfte einen o-Dimethylhydrochinonkern enthalten[19]).

HO — $CH_2$ — $CH_2$ — $C—C_{16}H_{33}$ — $H_3C$ — O — $CH_3$ — $CH_3$

[18]) H. M. Evans und Mitarb., J. org. Chemistry **4**, 376 (1939).

[19]) H. M. Evans und O. H. Emerson, J. biol. Chem. **113**, 319 (1936); H. S. Olcott und O. H. Emerson, J. amer. chem. Soc. **59**, 1008 (1937); O. H. Emerson, J. biol. Chem. **122**, 99 (1937).

Tabelle 15[18])

1. Chromane:
   2.2-Diäthyl-chroman
   2.2-Di-n-butyl-chroman
   5.7-Dimethyl-8-äthyltocol

2. Cumarane:
   2-Methyl-cumaran
   2.3.7-Trimethyl-cumaran
   2.3.4.6.7-Pentamethyl-5-oxy-cumaran

3. Cumarine:
   3-Carbäthoxy-5.7.8-trimethyl-6-oxy-cumarin

4. Cumarone:
   2.4.6.7-Tetramethyl-5-oxy-cumaron

5. Allylphenole:
   o-Allyl-phenol
   o,o-Dihexenyl-phenol
   p-Amino-o-allyl-phenol

6. Chinone und Hydrochinone:
   2.3-Dimethyl-hydrochinon
   p-Xylo-hydrochinon
   Pseudocumo-hydrochinon
   Pseudo-cumo-hydrochinon-monobenzoat
   Durohydrochinon
   Durochinon
   1.4-Dioxy-2.3-dimethyl-5.6.7.8-tetrahydro-naphthalin
   Rotes Oxydationsprodukt von α-Tocopherol (o-chinoid)
   α-Tocopherol-chinon

7. Phenol- und Hydrochinon-äther:
   Durohydrochinon-mono-n-butyl-äther
   „ -di-n-butyl-äther
   „ -di-n-hexyl-äther
   „ -mono-n-hexyl-äther
   „ -di-n-heptyl-äther
   „ -mono- und di-n-octyl-äther
   „ -monoessigsäureester
   „ -mono-n-dodecyl-äther

. Durohydrochinon-mono-n-dodecyl-ätherpalmitat
„ -mono-dihydro-phytyl-äther
„ -mono-n-octadecyl-äther
„ -mono-n-nonadecyl-2-äther
„ -mono-n-nonadecyl-äther
„ -mono-dihydrochaulmoograsäure-ester
„ -mono-benzyl-äther

Pseudocumohydrochinon-mono-n-hexyl-äther
„ -mono-n-dodecyl-äther und -aceta
„ -mono-dihydrochaulmoograsäure-ester

Dimethyl-tetrahydro-naphtohydrochinon-mono-n-dodecyl-äther

Nachweis und Bestimmung: Allen Tocopherolen gemeinsam ist die starke Reduktionswirkung gegenüber alkoholischer Silbernitratlösung. Die Reduktion erfolgt in der Hitze sofort, in der Kälte nach kurzem Stehen. Diese Reaktion ist jedoch nicht spezifisch für Vitamin E, kann aber bei genügend vorgereinigten Präparaten zum Nachweis dienen.

Eine andere Bestimmungsmethode, die auch den quantitativen Nachweis ermöglicht, hat P. Karrer[20]) ausgearbeitet. Die Tocopherole lassen sich durch Oxydation mit Goldchloridlösung in 80proz. Alkohol potentiometrisch scharf titrieren. Je Molekül Tocopherol werden 2 Äquivalentgewichte Goldchlorid verbraucht. Carotinoide dürfen bei dieser Bestimmung höchstens zu 0,1⁰/₀₀ vorhanden sein, da sie ähnlich Tocopherol reduzieren und zu falschen Resultaten Anlaß geben würden. Sind die Carotinoide entfernt, so kann die Methode zur quantitativen Bestimmung der Tocopherole in den unverseifbaren Anteilen äther- oder petrolätherlöslicher Extrakte aus pflanzlichen und tierischen Stoffen dienen. Die gefundenen Werte schließen alle drei Tocopherole ein, so daß die Ergebnisse nur insofern mit den biologisch ermittelten übereinstimmen, als auf das Gemisch der drei Tocopherole Rücksicht genommen wird; $\alpha$-Tocopherol ist ungefähr doppelt so wirksam wie $\beta$- oder $\gamma$-Tocopherol. Kennt man das Mischungsverhältnis der einzelnen Tocopherole in den natürlichen Vorkommen, so kann das potentiometrische Ergebnis leicht korrigiert werden. Im allgemeinen dürften die erhaltenen Werte praktisch mit den durch den Tierversuch erhaltenen übereinstimmen.

Furter und Meyer[21]) haben eine kolorimetrische Methode ausgearbeitet, die auf einer tiefroten Farbreaktion zwischen den Tocopherolen und Salpetersäure beruht. Diese Reaktion ist unter gewissen

[20]) Helv. chim. acta 21, 939, 1161 (1938).
[21]) Helv. chim. acta 22, 240 (1939).

Bedingungen für die Tocopherole außerordentlich spezifisch. Begleitstoffe der Tocopherole und Zersetzungsprodukte der Tocopherole zeigen diese Reaktion nicht. Carotinoide stören nicht, da sie unter der Einwirkung der Salpetersäure zu gelben oder farblosen Produkten oxydiert werden. Auch hier reagieren die biologisch verschiedenwertigen Tocopherole vollkommen gleich und es muß das Mischungsverhältnis in Betracht gezogen werden. Von großem Vorteil erweist sich die langdauernde Farbintensität. Die Bestimmung ist aber auch in unverseiften Ölen möglich, selbst in sehr verdünntem Zustande zeigen die Tocopherole die Farbreaktion. Die Bestimmung erfolgt in der Weise, daß die zu prüfende Substanz in Alkohol gelöst wird, nach dem Versetzen mit Salpetersäure auf dem Wasserbade kurze Zeit erwärmt wird und nach 15 Minuten die Farbintensität in einem Kolorimeter gemessen wird.

Nach einer dritten, von Emmerie und Engel*) ausgearbeiteten Methode werden die Tocopherole mit Ferrichlorid oxydiert und die sich dabei bildenden Ferroionen durch $\alpha$, $\alpha'$-Dipyridyl in eine intensiv rot gefärbte Komplexverbindung überführt, deren Intensität kolorimetrisch gemessen wird. Störende Carotinoide werden vorher durch Filtration durch eine Schicht Floridin XS-Erde entfernt.

Potentiometrische Bestimmung von synthetischem $\alpha$-Tocopherol mit ammoniakalischer Silbernitratlösung[22]): Zur Herstellung der Maßflüssigkeit werden etwa 1,7 g Silbernitrat in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst, dann vorsichtig Ammoniak zugegeben, bis alles Silberoxyd wieder in Lösung gegangen ist. Zur Entfernung von überschüssigem Ammoniak wird die Lösung eine Stunde evakuiert. Da diese Lösung nicht haltbar ist, muß vor jeder Titration der Silbergehalt bestimmt werden. Zu diesem Zweck gibt man eine abgemessene Menge ammoniakalischer Silbernitratlösung in den Titrierbecher, säuert mit Salpetersäure an und titriert mit 0,1-n-Salzsäure unter Verwendung einer Silberelektrode gegen n. Kalomelelektrode.

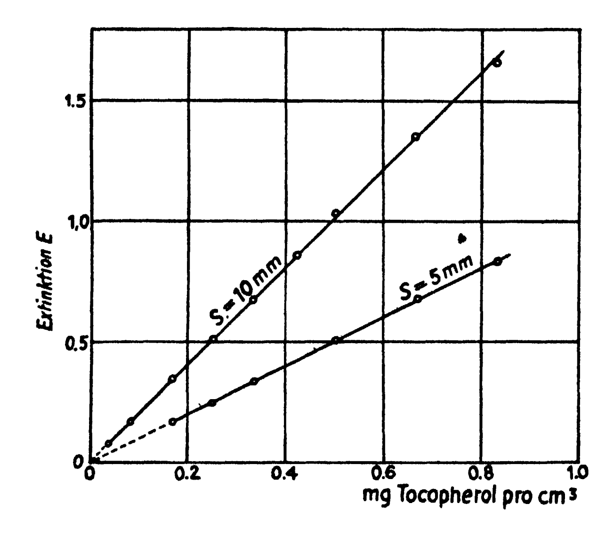
Für die potentiometrische Bestimmung werden 93,6 mg Tocopherol in 50 ccm Alkohol gelöst. Zur Titration kommen je 5 ccm dieser Lösung. Man arbeitet bei 50°.

Potentiometrische Bestimmung des Tocopherols mit Gold(III)chlorid[22]): Die Bestimmungen werden mit einer Platinelektrode gegen n. Kalomelelektrode ausgeführt. Man verwendet eine Lösung von 99,1 mg Tocopherol in 50 ccm Alkohol und nimmt je 5 ccm davon zu einer Titration.

*) Nature 142, 873 (1938).

**) P. Karrer und Mitarb., Helv. chim. acta 21, 939 (1938).

Zur Tocopherolbestimmung in Extrakten wird als Titrationsflüssigkeit 80proz. Alkohol bei 50° verwendet. Die Titration dauert etwa 3 Stunden. Die Bestimmung in Weizenkeimlingen erfolgt nach dieser Methode: Es werden 10 kg Weizenkeimlinge mit Benzol extrahiert, das Benzol abdestilliert und das zurückbleibende Öl (etwa 600 g) mit 600 ccm 4-n-methylalkoholischer Kalilauge verseift. Während der Verseifung wird Stickstoff durchgeleitet. Das verseifte Öl wird mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit Wasser alkalifrei gewaschen, mit Calciumchlorid getrocknet und der Äther verdampft. Von dem erhaltenen Öl werden 100,0 mg in 50 ccm Alkohol von 80% gelöst. Von dieser Lö-




sung werden je 25 ccm mit 250 ccm 80proz. Alkohol verdünnt und bei 50° titriert. Beispiel: Mittelwert des Potentialsprunges: 1,80 ccm Goldchloridlösung.

1,00 ccm verwendete $AuCl_3$-Lösung entspricht 1,72 ccm 0,01-n $AuCl_3$-Lösung;

1,80 ccm verbrauchte $AuCl_3$-Lösung entsprechen 3,10 ccm 0,01-n $AuCl_3$-Lösung;

3,10 ccm 0,01-n $AuCl_3$-Lösung entsprechen 6,7 mg Tocopherol.

Somit Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherol: 13,4% oder pro Kilogramm Weizenkeimlinge $= \frac{13,4 \times 22}{1000} = 0,295$ g Tocopherol.

Quantitative Tocopherol-Bestimmung mit Salpetersäure[21]): Eine Substanzmenge von 1—5 mg, die nicht weniger als 0,3 mg Tocopherol enthalten soll, wird in ein 25-ccm-Kölbchen ein-

gewogen und in genau 5 ccm absolutem Alkohol gelöst. Zu dieser Lösung läßt man aus einer Bürette unter fortwährendem Umschwenken des Kölbchens genau 1 ccm 65proz. reine Salpetersäure zufließen. Nach dem Einwerfen eines kleinen Tonstückchens wird der Inhalt des Kölbchens, am besten auf dem Dampfbade am Rückflußkühler, zum Sieden gebracht und genau 3 Minuten gekocht. Als Rückflußkühler kann man ein Glasrohr von 50 cm Länge und etwa 8 mm lichter Weite in einem gut paraffinierten Kork auf das Kölbchen aufsetzen. Nach dem Auskühlen während einer Minimalzeit von 15 Minuten wird die Farbintensität, bzw. die Extinktion der Lösung unter Zwischenschaltung des Farbfilters S 47 am Pulfrich-Photometer gemessen. Dazu pipettiert man die zur Füllung einer 1-ccm-Küvette notwendige Menge der Lösung vorsichtig aus dem Kölbchen heraus und achtet besonders darauf, daß keine Konzentrationsänderung durch Verdunsten von Alkohol eintritt. Im zweiten Strahlengang des Photometers wird zur Kompensation der Lösungsmittelabsorption eine gleiche Küvette mit einem Gemisch von 83,5 Vol.-% absolutem Äthanol und 16,5 Vol.-% konz. Salpetersäure eingeschaltet. Zu dem so ermittelten Extinktionswert sucht man auf der zur Schichtdicke passenden Eichgeraden den entsprechenden Wert für die Konzentration an Tocopherol (siehe Abb.).

## Die Darstellung der Tocopherole

### Technik der Vitamin-E-Gewinnung

1. Vitamin-E-Präparate: Das beste Material zur Gewinnung von Vitamin-E-Präparaten sind die Weizenkeime, nämlich die fettreichen Embryonen der reifen Weizenkörner. Die Weizenkeimlinge kommen in Form von hellgelben, flachen Blättchen aus den Mühlen, und sind in dieser Form zur Extraktion am besten geeignet. Sie sollen möglichst frisch sein und nicht ranzig riechen.

Als Extraktionsmittel eignen sich am besten Äther, Benzin oder Benzol. Weizenkeime enthalten etwa 8—10% Öl. Es hinterbleibt nach dem Abdampfen des Extraktionsmittels (womöglich im Vakuum) als dunkelbraunes, dickes Öl, das langsam erstarrt.

Da das Rohöl zu fast 95% aus verseifbaren Anteilen besteht, das Vitamin aber im Unverseifbaren bleibt, kann durch eine zweckmäßige Verseifung eine starke Anreicherung des Vitamins erzielt werden. Die Verseifung wird mit 20proz. methylalkoholischer Kalilauge bei höchstens 30° durchgeführt. Die nach mehreren Stunden verseiften Lösungen werden mit Petroläther ausgeschüttelt. Man schüttelt mehrere Male aus, um

Verluste zu vermeiden. Der Petroläther wird abdestilliert. Das Unverseifbare ist eine wachsartige, braungelbe Masse, die zu 90% aus Sterinen besteht. Man entfernt den größten Teil der Sterine durch Ausfrieren oder durch fraktionierte Krystallisation aus Pentan, in welchem die Sterine in der Kälte schwer löslich sind. Die vitaminhaltige Pentanlösung ist tief orangegelb gefärbt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels erhält man Konzentrate, die für pharmazeutische Zwecke genügend rein sind.

Das Amer. Pat. 1 879 734 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung von Vitamin-E-Konzentraten: Das Weizenkeimlingsöl wird in Aceton gelöst und bei Zimmertemperatur mit Natriumhydroxyd verseift. Die in Aceton unlöslichen Natriumseifen werden abfiltriert und durch Auspressen von der Lösung befreit. Man wäscht die Seifen mit wenig Aceton nach. Die vereinigten Acetonlösungen werden im Vakuum eingeengt und vom Lösungsmittel befreit. Es bleibt schließlich das Unverseifbare zurück.

2. Darstellung der reinen Tocopherole: Die Darstellung der reinen Tocopherole erfolgt zweckmäßig über die krystallinischen Allophanate. Vorher wird das Unverseifbare an Aluminiumoxyd adsorbiert. Man chromatographiert in Benzollösung und eluiert mit einem Äther-Alkohol-Gemisch 1 : 1. Durch Behandlung mit Cyansäure entstehen die Allophansäure-ester der Tocopherole, die nach der Verseifung das reine Vitamin E geben. Die Trennung der einzelnen Tocopherole erfolgt durch fraktionierte Krystallisation der Allophanate.

Das DRP. 651 474 beschreibt ein abgekürztes Verfahren:

10 g eines Vitamin-E-Präparates, aus dem die Sterine zum größten Teil entfernt worden sind, werden in 250 ccm trockenem Petroläther gelöst. In diese Lösung wird unter starker Kühlung die aus 30 g Cyanursäure entwickelte Cyansäure eingeleitet. Nach Stehen über Nacht wird zur Trockne gebracht und mit Äther extrahiert. Der Rückstand wird in 100 ccm Petroläther aufgenommen und von ungelösten Sterin-Allophanat abfiltriert. Die Lösung wird rasch durch eine 15 cm hohe und 2 cm dicke Säule von Aluminiumoxyd gesaugt und mit 500 ccm Petroläther nachgewaschen. Es wird trocken gesaugt und mit einem Methylalkohol-Äther-Gemisch 4 : 1 eluiert. Nach dem Einengen der Lösung krystallisiert zuerst das schwerer lösliche $\alpha$-Tocopherol-allophanat (Schmp. 160°) aus. Aus der Mutterlauge krystallisiert das $\beta$-Tocopherol-allophanat (Schmp. 135—138°) aus. Durch Verseifung erhält man die reinen Tocopherole.

# Synthese der Tocopherole

## A. Synthese von d,l-α-Tocopherol

1. Darstellung der Komponenten: Phytol. Dieser Bestandteil des Blattgrüns kann nach den Angaben von Willstätter und Stoll[23]) aus trockenem Brennesselmehl gewonnen werden. Aus 1 kg Brennesselmehl erhält man 2 g Phytol. Es kann auch nach F. G. Fischer und Löwenberg[24]) synthetisch gewonnen werden. Eine neue Methode der Synthese beschreibt P. Karrer mit B. H. Ringier[25]): Hexahydro-pseudoionon → 3.7.11-Trimethyl-3-oxydodecansäure-äthylester → 3.7.11-Trimethyl-dodecansäure-äthylester → Hexahydro-farnesol → Hexahydro-farnesylbromid → 2.6.10-Trimethyl-pentadecanon-(14) → 3.7.11.15-Tetramethyl-pentadecin-(1)-ol-(3) → 3.7.11.15-Tetramethyl-pentadecen-(1)-ol-(3) → Phytylbromid.

Die Darstellung des Phytylbromids aus Phytol erfolgt am besten mit Phosphortribromid.

Trimethyl-hydrochinon. Es entsteht aus dem entsprechenden Chinon durch Reduktion mit $H_2SO_3$ und bildet farblose Nadeln vom Schmp. 169—170° (aus heißem Wasser)[26]).

Das Chinon erhält man: 1. Durch Oxydation von Isoduridin[26]) 2. Durch Oxydation von p-Diamino-ψ-cumol-chlorhydrat mit $FeCl_3$. Dieses wird aus dem entsprechenden Dinitroderivat durch Reduktion mit $SnCl_2$ und HCl erhalten[27]). Das Chinon wird nach beiden Darstellungsweisen durch Wasserdampfdestillation isoliert.

Dinitroderivat —Redukt. / $SnCl_2$→ p-Diamino-ψ-cumol-chlorhydrat

23) R. Willstätter und A. Stoll, Chlorophyll. Berlin 1918.
24) Annal. 475, 183 (1929).
25) Helv. chim. acta 22, 610 (1939).
26) Noelting und Baumann, Ber. 18, 1152 (1885).
27) Nietzki und Schneider, Ber. 27, 1430 (1894).

Oxydat. $\xrightarrow{FeCl_3}$ Chinon — Red. $H_2SO_4$ → (Hydrochinon: OH, $H_3C$, $CH_3$, $CH_3$, OH); Isoduridin ($NH_2$, $H_3C$, $CH_3$, $-CH_3$, $CH_3$) — Oxyd. → Chinon

2. Synthese: Nach P. Karrer[10]) erfolgt die Vereinigung der Komponenten nach folgender Methode:

1,7 g Trimethyl-hydrochinon werden mit 10 ccm trockenem Benzin (Sdp. 80—100⁰) übergossen. Dazu fügt man 1,0 g wasserfreies Zinkchlorid und 4,8 g Phytylbromid und erwärmt die Reaktionsmasse im Stickstoffstrom auf 60—70⁰. Gleich zu Beginn des Erwärmens setzt eine überaus heftige Bromwasserstoffentwicklung ein, die nach etwa einer halben Stunde abgeklungen ist. Man erwärmt dann $1^1/_2$ Stunden weiter, zersetzt hierauf die Reaktionslösung durch Zugabe von Wasser, wäscht die Benzinschicht mit verdünnter Lauge und Wasser aus und trocknet sie. Hierauf wird das Reaktionsprodukt an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Adsorptionsröhre sieht nach der Entwicklung des Chromatogramms bis in die untersten Teile grau aus; zu unterst findet sich eine kleine gelbliche Zone. Die obere graue Hauptschicht wird mit einer Mischung von Methanol und Äther eluiert und hierauf nach dem Verdunsten der Lösungsmittel aus Benzin ein zweites Mal chromatographiert. Im zweiten Chromatogramm wird eine kleine obere Zone abgetrennt und die Hauptschicht wiederum in der gleichen Weise eluiert. Nach dem Verdunsten der Lösungsmittel hinterbleibt ein ganz schwach gelblich gefärbtes Öl, welches das reine Kondensationsprodukt darstellt.

F. Bergel[28]) und Mitarb. erhitzen in Dekalin kurze Zeit auf 180—190⁰, was eine Ausbeute von 100% ergibt. Nach der Kondensation

[28]) J. chem. Soc. London **1938**, 1382.

wird aus Petroläther an $Al_2O_3$ chromatographiert und die Mittelzone mit Benzol-Aceton-Methanol (8 : 1 : 1) eluiert.

L. I. Smith[29]) und Mitarb. synthetisierten α-Tocopherol aus Trimethyl-hydrochinon und geschmolzenem $ZnCl_2$ in Eisessig durch langsames Einrühren von Phytol im gelinden Sieden unter Rückfluß in Stickstoffatmosphäre. Nach 2 Stunden wird auf Eis gegossen und mit Äther extrahiert. Nach Verdampfen des Äthers unter Stickstoff wird eine Stunde mit 0,4proz. methylalkoholischer Kalilauge unter Rückfluß erhitzt, auf Eis gegossen und mit Äther extrahiert. Die Alkalibehandlung wird zweimal wiederholt. α-Tocopherol geht im Hochvakuum bei 145 bis 150° über. Vorher kann durch Adsorption an $Al_2O_3$ aus Petroläther gereinigt werden.

Das Schweiz. Pat. 205 361 schützt die Kondensation von Trimethyl-hydrochinon und Phytylhalogenid. Man kocht 1 Mol. Trimethylhydrochinon und 1 Mol. Phytylbromid in Gegenwart eines säurebindenden Mittels, wie Na-Äthylat, NaOH oder KOH 2 Stunden, im $N_2$-Strom. Das Schweiz. Pat. 205 362 beschreibt die Trennung der optischen Isomeren bei der Kondensation. Das Kondensationsprodukt wird in Pyridin gelöst und mit 3-Bromkamphersulfonsäurechlorid 4 Stunden auf 60—70° erwärmt. Man gießt in Eiswasser, nimmt in Äther auf, wäscht mit Wasser, Schwefelsäure, Natriumbicarbonat und wieder mit Wasser und verdampft den Äther. Es wird aus Alkohol umkrystallisiert. Die l-Verbindung bleibt in der Mutterlauge gelöst. Die auskrystallisierte d-Verbindung des α-Tocopherols schmilzt bei 48—50°.

B. Synthese von β-Tocopherol: F. Bergel[28]) kondensiert 1 g Phytol mit 0,46 g m-Xylochinol und 0,5 g $ZnCl_2$ in 7 ccm Dekalin während 6 Stunden. Hierauf werden nochmals 0,5 g $ZnCl_2$ zugesetzt und nochmals 3 Stunden gekocht. Die Aufarbeitung erfolgt wie oben.

Nach den geschilderten Methoden läßt sich eine große Anzahl synthetischer Verbindungen herstellen, die Vitamin-E-Wirksamkeit zeigen. Man hat aber zur Aufklärung der Chemie des E-Vitamins noch sehr viele Verbindungen hergestellt, die zwar nicht aktiv sind, aber im Aufbau dem Vitamin E ähneln. Sie werden im Prinzip nach den gleichen Methoden hergestellt.

---

[29]) J. amer. chem. Soc. **61**, 2615 (1939).

# III. Naphthochinonderivate

## Das Vitamin K (antihämorrhagisches Vitamin)

Das antihämorrhagische Vitamin $K_1$ kommt vor allem in Schweineleber, Spinat, Kohl, Luzerne und Alfalfa-Heu vor. Hanfsamen und Tomaten enthalten ebenfalls größere Mengen, dagegen ist es in Getreidesorten nur wenig enthalten. Hühnereidotter enthält ebenfalls etwas Vitamin $K_1$. Geringe Mengen enthalten noch Reiskleie und manche Bakterien. Frei von diesem Vitamin sind: Hefe, Eiklar, Weizenkeimöl.

Tabelle 16*)

| Vorkommen | Einheiten Vitamin K im g Trockensubstanz |
|---|---|
| Luzerne | 200—400 |
| Weißkohl | 400 |
| Spinat | 500 |
| Blumenkohl | 400 |
| Brennesseln | 400 |
| Roßkastanie | 800 |
| Gras | 200 |
| Erdbeeren | 15 |
| Hagebutten | 10 |
| Tomaten | 50 |
| Hanf | 40 |
| Sojabohne | 25 |
| Erbsen | 15 |
| Hafer | 8 |
| Weizen | 3 |
| „ -kleie | 8 |
| „ -keime | 3 |
| Karotten | 10 |
| Kartoffeln | 8 |
| Hundeleber | 67 |
| Schweineleber | 50 |
| Dorschleber | 10 |

*) Dam, Z. f. Vitaminf. 8, 248 (1938).

Das Vitamin $K_1$ vermag am K-frei ernährten Kücken die verminderte Blutgerinnung wieder zu steigern. Bei Mangel an diesem Vitamin treten am Huhn zahlreiche Blutungen auf, am häufigsten unter der Haut oder intramuskulär an Beinen, Brust, Hals, Flügeln, seltener in Bauch- und Brusthöhle. Das Vitamin ist unentbehrlich für Hühner, Gänse und Enten. Für die menschliche Therapie hat das Vitamin $K_1$ in neuester Zeit eine größere Bedeutung erlangt, seitdem nachgewiesen wurde, daß die Zufuhr bei Verschlußikterus die hämorrhagische Diathese zu beheben

vermag[1]). Bei Gallenfisteln hat es sich ebenfalls bewährt. Von besonderer Wichtigkeit erwies es sich bei der Behandlung von Neugeborenen mit Prothrombinmangel[2]). H. R. Butt[3]), Snell und Osterberg erzielten bei Tumoren an Galle, Leber und Pankreas durch Gaben von Vitamin $K_1$ mit gleichzeitiger Zufuhr von gallensauren Salzen eine günstige Heilwirkung. Nach O. Thordarson[4]) besteht bei Gelbsucht, bei Gallenfisteln und bei neugeborenen Kindern eine Hypoprothrombinämie, die meist auf ein Fehlen von Galle im Darm zurückgeführt werden kann. Die Heilung gelingt durch Zufuhr von Vitamin $K_1$ und Gallenbestandteilen.

Normalerweise scheint der Säugetierorganismus von der Zufuhr von Vitamin K unabhängig zu sein, solange die normale Tätigkeit der Darmbakterien anhält. Diese, besonders die Coli-Bakterien, können das Vitamin in ihrem Organismus synthetisieren und enthalten große Mengen des Vitamins. Aus den Bakterienleibern wird es im Darm vom Säugetier resorbiert. Ist diese Fähigkeit durch irgendeine Ursache gestört, dann treten auch beim Säugetier K-Avitaminosen auf.

Die Zufuhr von Vitamin $K_1$ erfolgt am besten in Fischleberöl oder in Wessonöl gelöst. Die vom Kücken benötigten Mengen an reinem Vitamin oder einem der synthetischen Präparate sind sehr klein; 1 g Vitamin $K_1$ entspricht einer Wirksamkeit von etwa 63 000 Einheiten[5]).

Konstitution: H. J. Almquist und A. A. Klose[6]) fanden bei Vergleichversuchen, daß dem synthetischen Phthiocol, dem 2-Methyl-3-oxy-1.4-naphthochinon, eine antihämorrhagische Wirkung zukommt, die ungefähr $^1/_{500}$ von der des Vitamins $K_1$ beträgt.

Das Phthiocol ($C_{11}H_8O_2$) bildet gelbe Prismen, die bei 173° schmelzen Sie sind gut löslich in Alkohol, Äther und als Alkalisalz auch in Wasser. Das Präparat eignet sich wegen seiner Ungiftigkeit und seiner guten Löslichkeit als Vitamin-K-Präparat zur Therapie. Zur Injektion wird es in m/20 Phosphatpuffer $p_H = 7{,}8$ gelöst. Der Farbstoff wird von menschlichen Tuberkelbazillen synthetisiert und in ihren lipoiden Membranen abgelagert.

Aus dem Vergleich der chemischen und physikalischen Eigenschaf-

[1]) F. Koller, Zbl. Chir. **66**, 1949 (1939).

[2]) F. Koller und F. Wuhrmann, Klin. Wschr. **18**, 1058 (1939); W. W. Waddel und du Pont Guerry, J. amer. med. Assoc. **112**, 2259 (1939); G. H. Scanlon und Mitarb., J. amer. med. Assoc. **112**, 1898 (1939).

[3]) C. **1940 I**, 84 (Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. 14, 417—502).

[4]) Nordisk. Med. **4**, 2992 (1939).

[5]) H. J. Almquist und A. A. Klose, J. biol. Chem. **130**, 787 (1939).

[6]) J. amer. chem. Soc. **61**, 1611, 1923 (1939).

ten von Phthiocol und Vitamin K schlossen Almquist und Klose, daß das Phthiocol das einfachste Glied einer homologen Reihe von Stoffen mit antihämorrhagischer Wirkung sein müsse. Die nunmehr in dieser Richtung erfolgte Erforschung der Konstitution des Vitamins $K_1$ bestätigte diese Annahme.

Bei der Oxydation mit Chromsäure[7]) entsteht aus dem Vitamin $K_1$ Phthalsäure, deren Entstehung beweist, daß der Benzolring unsubstituiert ist. Weiter entsteht die 2-Methyl-1.4-naphthochinon-3-essigsäure, identifiziert als Methylester, $C_{14}H_{12}O_4$.

Vitamin $K_1$ —Oxydation / $CrO_3$→ Phthalsäure (COOH, COOH) und 2-Methyl-1.4-naphthochinon-3-essigsäure (O, O, $CH_3$, $CH_2.COOH$)

Phthalsäure

2-Methyl-1.4-naphthochinon-3-essigsäure

Bei der Oxydation[7]) von Diacetyl-dihydro-vitamin $K_1$ mit Chromsäure entsteht neben etwas freiem Vitamin und Phthalsäure, sowie der Chinonsäure in der Hauptsache 1.4-Diacetoxy-2-methyl-naphthalin-3-essigsäure, $C_{17}H_{16}O_6$. Dieselbe Säure entsteht auch bei der reduzierenden Acetylierung. Hydrolytische und oxydative Spaltung dieser Säure liefert 2-Methyl-1.4-naphthochinon-3-essigsäure. Als Neutralkörper bei der Ozonspaltung des Diacetyl-dihydro-vitamins entsteht das 2.6.10-Trimethyl-pentadecanon-14. Dieses stammt aus dem Phytolrest der Seitenkette.

(O.Ac, O.Ac, $CH_3$, $CH_2.COOH$)

1.4-Diacetoxy-2-methyl-naphthalin-3-essigsäure

$$O{=}\underset{\displaystyle CH_3}{C}-(CH_2)_3-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-(CH_2)_3-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-(CH_2)_3-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_3$$

2.6.10-Trimethyl-pentadecanon-14

[7]) E. A. Doisy und Mitarb., J. biol. Chem. **130**, 433; **131**, 357 (1939); J. amer. chem. Soc. **61**, 1928, 2558 (1939).

Dem Vitamin $K_1$ kommt demnach die Konstitution[7]) eines 2-Methyl-3-phytyl-1.4-naphthochinons zu:

```
          O
          ‖
   CH     C
  //  \  / \
HC     C     C—CH3
|      ‖     ‖
HC     C     C—CH2—CH=C—(CH2)3—CH—(CH2)3—CH—(CH2)3—CH—CH3
  \\  / \   /           |           |           |           |
   CH     C             CH3         CH3         CH3         CH3
          ‖
          O
```

Die Konstitutionsformel konnte durch Synthese bewiesen werden[8]). Die Synthese gelingt durch Kondensation von 2-Methyl-1.4-naphthohydrochinon mit Phytylbromid nach der Claisenschen Kernalkylierungsmethode. Das entstandene Dihydrovitamin $K_1$ wird durch Luftsauerstoff zum Vitamin $K_1$ oxydiert. Ein zweiter Weg ist die direkte Kondensation von 2-Methyl-1.4-naphthohydrochinon mit Phytol in Gegenwart von $ZnCl_2$.

```
        OH
        |
   //\ / \\
  |   ‖    |—CH3
  |   ‖    |      +BrCH2—CH=C—(CH2)3—CH—(CH2)3—CH—(CH2)3—CH—CH3
   \\/ \  //                |           |           |           |
        |                   CH3         CH3         CH3         CH3
        OH
```

Eigenschaften: Vitamin $K_1$ bildet ein gelbes, zähes Öl vom Kochpunkt $2 \cdot 10^{-4}$ mm/115—145°. Beim Abkühlen erstarrt es zu einem Krystallbrei. Die Krystalle schmelzen bei —20°. Die Bruttoformel ist $C_{31}H_{46}O_2$. $E^{1\%}_{1\,cm} = 540$ bei 248 m$\mu$[9]). Die Maxima des Absorptionsspektrums liegen bei 243, 248, 261, 270 und 323 m$\mu$. Beim Belichten mit der Argonlampe zeigt das Vitamin $K_1$ eine charakteristische weiße Fluoreszenz[10]).

Das Vitamin ist gegen Licht sehr empfindlich und wird beim Belichten schnell zerstört. Ebenso empfindlich ist es gegen Alkalien. An der Luft wird es zu einer gelben Verbindung oxydiert. Mit

---

[8]) E. A. Doisy, J. biol. Chem. **131**, 357 (1939); J. amer. chem. Soc. **61**, 2558 (1939); L. F. Fieser, J. amer. chem. Soc. **61**, 2559, 2561 (1939).

[9]) E. A. Doisy und Mitarb., J. biol. Chem. **130**, 219 (1939).

[10]) H. J. Almquist und A. A. Klose, J. amer. chem. Soc. **61**, 2557 (1939).

Zink und Essigsäure wird eine *farblose Hydrochinonstufe* gebildet, die durch Luft wieder reoxydiert wird. In Eisessig gelöst, nimmt das Vitamin bei 20° und Atmosphärendruck 4 $H_2$ auf (Pt-Schwarz). Gegen starke *Säuren* und $AlCl_3$ ist das Vitamin nicht beständig. Das Vitamin gibt mit Natriummethylat in alkohol. Lösung eine charakteristische rote bis violette *Farbreaktion*. Das Vitamin ist ein relativ stark stabilisiertes Chinon; das *Redoxpotential* beträgt E = +0,005 Volt.

Bei der *reduzierenden Acetylierung* wird das *Diacetyl-dihydro-vitamin* $K_1$ gebildet, $C_{35}H_{52}O_4$. Aus Petroläther oder Methanol weiße Nadeln vom Schmp. 59°. *Absorption* zwischen 220 bis 300 m$\mu$. $E^{1\%}_{1\,cm}$ = 1600 bei 232 m$\mu$. Leicht löslich in Aceton, Alkohol und Benzol. Die *Aktivität* ist ungefähr *halb* so groß wie die des Vitamins. Bei der *katalytischen Hydrierung* mit Wasserstof und Pt-Schwarz in Eisessig und n-Butyläther werden 3 $H_2$ aufgenommen In wäßriger oder alkoholischer Lösung ist das Diacetat gegen Säuren und Alkalien beständig. Es wird nur sehr schwer verseift. In 1proz. alkoholischer KOH-Lösung dem Sonnenlicht ausgesetzt, wird es nach 36 Stunden inaktiviert. Gegen Belichten in neutraler Lösung ist es ziemlich beständig. Durch Methylmagnesiumjodid im Überschuß und anschließendes Schütteln der hydrolysierten ätherischen Lösung mit Luft wird das freie Vitamin zurückgebildet[11]).

OCOCH₃ / —CH₃ / —CH₂—CH=C-(CH₂)₃—CH—(CH₂)₃—CH—(CH₂)₃—CH—CH₃ (mit CH₃ an C, CH, CH, CH) / OCOCH₃

Diacetyl-dihydro-vitamin $K_1$

## Vitamin $K_2$

Dieses Vitamin, ein Isomeres des Vitamins $K_1$, wurde von E. A. *Doisy*[12]) aus *verwesten Fischen* isoliert. Es stellt, aus niedrig siedendem Petroläther oder Methanol umkrystallisiert, eine hellgelbe Krystallmasse dar, die bei 53,5—54,5° schmilzt. Bruttoformel wahrscheinlich $C_{40}H_{54}O_2$ oder $C_{40}H_{56}O_2$. In 1proz. absolut alkohol. Lösung

[11]) E. A. Doisy und Mitarb., J. biol. Chem. **130**, 219 (1939); J. amer. chem. Soc. **61**, 1612 (1939).

[12]) E. A. Doisy und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 1295 (1939); J. biol. Chem. **131**, 327 (1939).

ist es optisch inaktiv. Es besitzt ungefähr die halbe biologische Wirksamkeit des Vitamins $K_1$, d. h. 600 Einheiten/mg. $K_2$ zeigt ein Absorptionsspektrum im Ultraviolett, das dem des $K_1$ sehr ähnlich ist. Maxima bei 243, 249, 260, 270 und 320 m$\mu$. $E^{1\%}_{1\,cm} = 305$ bei 249 m$\mu$

Vitamin $K_2$ ist ein ausgesprochen fettlösliches Vitamin und gleicht darin dem Vitamin $K_1$. Es ist unlöslich in Wasser und 50proz. Alkohol, löslich in absol. Alkohol, Aceton, Benzol, Äther und in den gewöhnlichen Fettlösungsmitteln. Löslich in fetten Ölen und in Fetten.

Bei der katalytischen Hydrierung mit aktivem Nickel und Wasserstoff bei 210° und 250 atm. durch 5 Stunden (in Äthanol) nimmt es 24 H-Atome auf und bildet dann ein farbloses Öl vom Kp. $2.10^{-4}$ mm 175°, das kein 3.5-Dinitrobenzoat gibt. Gegen Licht und Alkali ist $K_2$ genau so empfindlich wie $K_1$ und wird bei längerer Einwirkung von Sonnenstrahlen inaktiviert. Es läßt sich bei 200° und $2.10^{-4}$ mm destillieren, wobei es jedoch teilweise zerstört wird. Durch Kaliumpermanganat wird es schnell und vollständig zerstört. Es reagiert nicht mit Maleinsäureanhydrid, Desoxycholsäure, Hydroxylamin oder Semicarbazid. Mit Cyanessigester gibt es keine Farbreaktion. Es könnte daher ein 2.3-disubstituiertes Naphthochinon sein. Es enthält in der oder den Seitenketten zusammen 6 Doppelbindungen. L. F. Fieser[13]) hält für ein 2.3-Difarnesyl-1.4-naphthochinon.

```
              O
              ‖
     CH       C               CH3              CH3                CH3
    //  \   /   \             |                |                  |
 HC       C       C—CH2.CH=C—(CH2)2—CH=C—(CH2)2—CH=C—CH3
 |        ‖       ‖
 HC       C       C.CH2.CH = C—(CH2)2—CH=C—(CH2)2—CH=C—CH3
    \\  /   \   /             |                |                  |
     CH       C               CH3              CH3                CH3
              ‖
              O
```

Vitamin $K_2$

Vitamin $K_2$ gibt ebenfalls ein Dihydrodiacetat[14]), das in Nadeln vom Schmp. 56,5—57,5° krystallisiert. Nach dem Erstarrenlassen liegt der Schmp. bei 59,5—60°. Bruttoformel: $C_{44}H_{60}O_4$. Es nimmt nach der kalten Mikro-hydrierung 16 H-Atome auf. Die physiologische Wirksamkeit beträgt 300 Einheiten/mg, ist also nur halb so groß wie die des freien Vitamins $K_2$. $E^{1\%}_{1\,cm} = 1250$ bei 232 m$\mu$.

[13]) L. F. Fieser und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 1925 (1939).

[14]) E. A. Doisy und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 1612 (1939); J. biol. Chem. **131**, 327 (1939).

Konstitution und physiologische Wirkung: Die von Almquist ausgesprochene Vermutung, daß es sich bei der Wirksamkeit der Vitamine K um keine auf diese beiden Körper beschränkte spezifische Wirkung handele, wurde durch die Untersuchungen dieses und anderer Forscher bestätigt. Es wurden eine große Anzahl von Verbindungen oft sehr einfacher Natur hergestellt und auf K-Wirksamkeit geprüft. Es ergab sich die überraschende Beobachtung, daß sehr viele Chinone eine K-Wirksamkeit zeigen. Selbst ganz einfache Körper, wie Derivate des p-Benzochinons und 1.4-Naphthochinon selbst, zeigen eine ausgesprochene physiologische K-Wirkung. Die Prüfung der Wirksamkeit wurde an vitamin-K-frei ernährten Kücken durchgeführt. Interessanterweise zeigt auch das durch Oxydation von $\alpha$-Tocopherol (Vitamin E) erhaltene $\alpha$-Tocopherylchinon, das selbst keine E-Wirksamkeit mehr besitzt, eine ausgesprochene K-Wirksamkeit bei Tagesdosen von 10 mg. Hier liegt der bemerkenswerte Fall einer Überführung eines Antisterilitätsfaktors in eine antihämorrhagisch wirksame Verbindung vor. Mit dieser Tatsache ist die schon aus der Konstitutionsformel ersichtliche Beziehung des Vitamins E zum Vitamin K bekräftigt. Diese Beziehung erstreckt sich jedoch nur auf die chemische Verwandtschaft.

Unter den bisher synthetisch erhaltenen Substanzen mit Vitamin-K-Wirkung besitzt das natürliche Vitamin $K_1$ (aus Alfalfa-Heu) die stärkste physiologische Wirksamkeit. Das 2-Methyl-1.4-naphthochinon ist nur um ein Geringes weniger wirksam. Einführung einer Oxygruppe in 2 schwächt die Wirksamkeit. Das Echinochrom (Pentaoxy-äthylnaphthochinon) ist ganz unwirksam. Dagegen ist die Substitution von Alkylgruppen in den Naphthochinonkern von großem Einfluß auf die Wirksamkeit.

Wegen der fast gleichstarken Wirksamkeit des 2-Methyl-1.4-naphthochinons im Vergleich mit $K_1$ wird dieser Körper zur therapeutischen Verwendung vorgeschlagen, da er sich wegen seiner leichten Löslichkeit in verdünntem Alkali zur Injektion eignet[15]). Die perorale Zufuhr der in Öl gelösten Präparate ist von gleicher Wirkung. Thayer und Doisy[15]) schlagen als Einheit der K-Wirksamkeit 1 mg des reinen 2-Methyl-1.4-naphthochinons vor, das 1 Einheit $K_1$ entspricht.

In der Tabelle 17 sind einige der wichtigsten Verbindungen mit K-Wirksamkeit zusammengestellt[16]).

---

[15]) S. A. Thayer, E. A Doisy und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 2563 (1939).

[16]) R. Kuhn und Mitarb., Naturwiss. **27**, 518 (1939); H. J. Almquist und A. A. Klose, J. amer. chem. Soc. **61**, 1923 (1939); S. Ansbacher und

Tabelle 17

| Verbindung | Wirksame Tagesdosis in $\gamma$ |
|---|---|
| Vitamin $K_1$ ($\alpha$-Phyllochinon) . . . | 1 |
| Vitamin $K_2$ . . . . . . . . . | 2 |
| 2-Methyl-1.4-naphthochinon . . . . | 1 |
| 2-Äthyl-1.4-naphthochinon . . . . | 200 |
| 2-3-Dimethyl-1.4-naphtochinon . . . | 50 |
| $\alpha$-Naphthochinon . . . . . . . | 10 000 |
| 2-Oxy-naphthochinon . . . . . . | 10 000 |
| $\alpha$-Tocopheryl-chinon . . . . . . | 10 000 |
| 2.5-Dimethyl-benzochinon (Phloron) | 2 000 |

Nachweis und Bestimmung: Vitamin K gibt in alkohol. Lösung mit Na-Alkoholat eine tiefvioletttblaue Farbe, die nach rot und braun umschlägt. Beim Ansäuern erfolgt Farbaufhellung. Mit Na-Methylat erfolgt eine entsprechende Rotfärbung. P. Karrer[17]) führt die blaue Farbe der Alkalisalze auf das Vorliegen elektromerer Formen zurück. Die Färbung entspricht den Blaufärbungen, die Liebermann an 1.4-Naphthochinonen mit reaktionsfähiger (saurer) CH-Gruppe in 2- bzw. 3-Stellung beobachtete.

Zur Ausführung einer Bestimmung von Vitamin K nach dieser Reaktion werden einige mg Konzentrat in 1—2 ccm Methanol gelöst und 1 ccm Na-Methylat (2—3 g Natrium in 50 ccm Methanol) hinzugefügt. Nach einigen Minuten Erwärmen wird die Lösung langsam purpurfarben, wenn genügend K anwesend ist und störende Pigmente fehlen. Wenn nach einiger Zeit die Farbe in rötlichbraun umgeschlagen ist, können Carotinoide durch Ausschütteln mit Petroläther entfernt werden. Die vom K herrührende Farbe verbleibt in der Methanolphase. Die Farbstärke kann kolorimetrisch bestimmt werden[18]). E. Fernholz[19]) bestreitet allerdings die Spezifität der Reaktion.

## Darstellung des Vitamins $K_1$

Die Darstellung von natürlichem Vitamin $K_1$ erfolgt am besten aus Alfalfa-Heu durch Acetonextraktion. Zur Reinigung der Rohextrakte

E. Fernholz, J. amer. chem. Soc. **61**, 1924 (1939); J. biol. chem. **131**, 399 (1939); E. A. Doisy und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 1925 (1939); L. F. Fieser und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 1926 (1939); M. Tishler und W. L. Sampson, J. amer. chem. Soc. **61**, 2563 (1939).

[17]) Helv. chim. acta **22**, 1146 (1939).

[18]) H. J. Almquist und A. A. Klose, J. amer. chem. Soc. **61**, 1610 (1939).

[19]) J. amer. chem. Soc. **61**, 1613 (1939).

wird die vom Aceton befreite Masse in Petroläther gelöst und die Lösung mit 90proz. Methanol oder 90proz. Essigsäure ausgeschüttelt, wobei das Vitamin jeweils im Petroläther verbleibt. Rote und grüne Farbstoffe können durch Adsorption an Magnesiumoxyd und Kohle leicht entfernt werden. Das Vitamin wird dabei nicht adsorbiert. Ausfrieren in Äthylalkohol führt zur Abtrennung von Begleitstoffen, die in Alkohol schwerer löslich sind als das Vitamin. Das vom Lösungsmittel befreite angereicherte Produkt kann durch Destillation im Hochvakuum (120—140° bei $10^{-3}$ mm; 50—70° bei $10^{-4}$ mm) weiter angereichert werden[20]).

Klose und Almquist[21]) empfehlen eine Vorreinigung des Alfalfa-Extraktes mit Phosphorwolframsäure. Sie fügen zu einem Gramm Ausgangsmaterial 0,03 g Säure und mischen $^1/_2$ Vol. Äther zu 1 Vol. Hexanextrakt von trockenem Alfalfa-Heu. Nach dem Ausschütteln wird die Ätherschicht entfernt.

Karrer[22]) beschreibt ein Anreicherungsverfahren, das auf der Kombination von Adsorption an $ZnCO_3$ und $MgSO_4$ beruht. Anschließende Molekulardestillation gibt sehr reine Produkte.

Nach E. A. Doisy[23]) werden die rohen Extrakte von Alfalfa-Heumehl durch fraktionierte Adsorption an Decalso und Permutit gereinigt und angereichert. Es muß 4—5mal chromatographiert werden: 1. 1—2-mal an Decalso; 2. 2mal an Permutit; 3. 1mal an Aktivkohle (Norit). Als Lösungsmittel wird Petroläther verwendet. Zur Elution dient ein Petroläther-Benzolgemisch 9 : 1, das zum Schluß durch ein Gemisch 4 : 1 ersetzt wird. Die so erhaltenen Präparate werden zum Schluß noch einmal an Aktivkohle aus Alkohol adsorbiert.

### Synthese von Vitamin $K_1$

1. Darstellung des 2-Methyl-1.4-naphthochinons: Eine Lösung von 200 g β-Methylnaphthalin in 2 Liter Eisessig wird in 2 Stunden unter Rühren bei Temperaturen bis 20° in eine Lösung von 800 g $CrO_3$ in 1,5 Liter 80proz. Essigsäure fließen gelassen. Nach einigen Stunden läßt man die Temperatur etwas steigen, doch nie über 50—60°. Nach 36 Stunden wird in Wasser gegossen und das Chinon abgetrennt.

---

[20]) H. Dam und Fr. Schonheyder, Biochem. J. 28, 1355 (1934); 29, 1273 (1935); 30, 1075 (1936).

[21]) A. A. Klose und H. J. Almquist, J. amer. chem. Soc. 61, 532 (1939).

[22]) P. Karrer und Mitarb., Helv. chim. acta 22, 1464 (1939).

[23]) E. A. Doisy und Mitarb., J. biol. Chem. 130, 219 (1939).

Man krystallisiert aus Methanol unter Zusatz von Norit um. Schmp. 105 bis 106°. Ausbeute 70 g (29%)[24]). —

2. 2-Methyl-1.4-naphthohydrochinon[24]): Das Chinon läßt sich leicht mit $SnCl_2$ in konz. HCl und Alkohol, sowie mit $Na_2S_2O_4$ reduzieren. Farblose Nadeln.

3. Synthese von Vitamin $K_1$[25]): 2-Methyl-1.4-naphthohydrochinon wird im großen Überschuß mit Phytol bei 75° in Dioxan mit etwas wasserfreier Oxalsäure kondensiert. Unverändertes Hydrochinon wird durch Ausschütteln des Ätherauszuges mit Hydrosulfit entfernt. Der Verdampfungsrückstand bildet nach Digerieren mit Petroläther eine wachsartige weiße Masse, die in trockenem Äther mit $Ag_2O$ zum Vitamin $K_1$ oxydiert wird.

An Stelle von Oxalsäure kann auch Trichloressigsäure verwendet werden.

Nach E. A. Doisy[26]) kann die Synthese folgendermaßen durchgeführt werden: Äquivalente Mengen von Phytylbromid und dem Na-Salz von 2-Methyl-1.4-naphthohydrochinon werden in Benzol kondensiert. Man erhält das Hydrochinon des Vitamins, das an der Luft zum Vitamin oxydiert wird.

---

[24]) L. F. Fieser und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **61**, 3216 (1939).
[25]) L. F. Fieser, J. amer. chem. Soc. **61**, 2559 (1939).
[26]) J. amer. chem. Soc. **61**, 2558 (1939).

# B. Wasserlösliche Vitamine

## I. Ketolactone der Zuckergruppe

### Vitamin C (l-Ascorbinsäure)

Allgemeines

Dieses Vitamin gehört zu dei großen Unterabteilung der wasserlöslichen Vitamine, die zum Teil stickstoffhaltig sind und sich auf Grund ihrer Löslichkeitsverhältnisse von den sogenannten fettlöslichen Vitaminen A, D, E, K und F unterscheiden.

Im Anfang des Jahres 1932 wurde durch Untersuchungen von Szent-Györgyi[1]), Tillmanns[2]) und King[3]) fast gleichzeitig der Nachweis erbracht, daß eine schon im Jahre 1928 von Szent-Györgyi[4]) aus den Nebennieren von Ochsen, aus Kohl und Apfelsinen dargestellte Substanz $C_6H_8O_6$ identisch mit dem Vitamin C ist. 1—2 mg der reinen Substanz genügten, um ein Meerschweinchen bei Vitamin-C-freier Ernährung vor Skorbut zu schützen.

Der Skorbut, über den zuerst im 13. Jahrhundert Angaben gemacht wurden, befiel besonders Seeleute auf langen Schiffsreisen, wenn die frische Nahrung knapp geworden war und ausschließlich aus Konserven und Schiffszwieback bestand. Aber auch in belagerten Städten, in Gefängnissen und bei großen Hungersnöten tritt diese Krankheit auf. Sie besteht in einem Lockerwerden der Zähne, Zahnfleischblutungen, in Blutergüssen in die Gewebe und in einem Sprödwerden der Knochen, das zu spontanen Knochenbrüchen führen kann. Gleichzeitig tritt eine stark verminderte Resistenz gegen Infektionskrankheiten auf. Durch frisches Gemüse kann die Krankheit schnell geheilt werden.

Im Jahre 1912 erbrachte Axel Holst[5]) den tierexperimentellen Beweis, daß der Skorbut eine Avitaminose ist. Dadurch entstand die Möglichkeit, das C-Vitamin in Nahrungsmitteln auf biologischem Wege

[1]) Nature **130**, 576 (1932).
[2]) Biochem. Ztschr. **250**, 312 (1932).
[3]) Science **75**, 357 (1932).
[4]) Biochemic. J. **22**, 1387 (1928).
[5]) Z. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **72**, 1 (1912).

einigermaßen quantitativ zu bestimmen und systematische Untersuchungen über das Vorkommen des antiskorbutischen Vitamins anzustellen, was zur Darstellung von Konzentraten führte. Aber erst die Darstellung einer krystallisierten Substanz aus Nebennierenrinde durch Szent-Györgyi und die spätere Erkenntnis, daß diese „Hexuronsäure" identisch ist mit dem Vitamin C, gestattete die Isolierung des Vitamins aus einer großen Zahl von tierischen und pflanzlichen Materialien. In rascher Folge gelang dann im Jahre 1933 die Konstitutionsaufklärung und im Jahre 1934 die Synthese dieses Vitamins. Heute ist Vitamin C ein Handelsprodukt der organischen Großindustrie, die es teils synthetisch gewinnt, teils aus Naturstoffen in hoher Ausbeute auf technisch gangbaren Wegen herstellt. Die Möglichkeit, große Mengen des Vitamins billig herzustellen, gestattete gleichzeitig die intensivste physiologische Erforschung dieses Wirkstoffes, die eine Fülle wichtiger Ergebnisse zeitigte.

Vorkommen: Das Vitamin C ist in der Natur außerordentlich weit verbreitet. Dabei kommt es ebenso häufig in tierischen wie in pflanzlichen Materialien vor. Es findet sich in allen grünen Pflanzen. Chlorophyll-lose Pflanzen (Schmarotzer) enthalten so gut wie kein Vitamin C. In besonders angereicherter Form findet es sich in Früchten und Beeren, aus denen es verhältnismäßig leicht zu gewinnen ist. Reich an dem Vitamin sind z. B. alle Citrusfrüchte wie Zitronen, Orangen, Apfelsinen und Hagebutten, Paprika und Gladiolen. Von Gemüsesorten sind Kohl, Erbsensämlinge, Rüben und Kartoffeln reich an Vitamin C. Gute Quellen sind weiter Tannennadeln, Vogelbeeren, Schwertlilie.

Im tierischen Organismus zeichnen sich vor allem die Drüsen mit innersekretorischer Tätigkeit durch hohen Vitamin-C-Gehalt aus. Nebennierenrinde, Corpus luteum und Hypophysenvorder- und -hinterlappen sowie Milz sind die besten Quellen.

Manche Tiere können das Vitamin C im eigenen Organismus aufbauen, so daß er für diese als Hormon gelten muß, und sind daher auf dessen Zufuhr mit der Nahrung nicht angewiesen. Hunde und Ratten gehören hierher, aber auch manche Polarvölker scheinen ohne sichtbare Vitamin-C-Zufuhr auskommen zu können. Eine Zusammenstellung des natürlichen Vorkommens von Vitamin C gibt die Tab. 18.

Konstitution: Die erste Isolierung[1]) des damals noch nicht als Vitamin erkannten Stoffes $C_6H_8O_6$ gelang auf Grund seines starken Reduktionsvermögens gegenüber Jod und Silbernitratlösung in saurer Lösung. Die stark reduzierenden Eigenschaften gestatteten die Ausarbeitung einer chemischen Bestimmungsmethode: Das blaue 2.6-Dichlor-phenol-indophenol und ebenso das Methylenblau wird von

Tabelle 18

| Vorkommen | g/kg | Vorkommen | g/kg |
|---|---|---|---|
| Pflanzen: | | Iris germanica, Blätter . . | 6,0 |
| Zitronen . . . . . . . | 0,5 | Lotoswurzel . . . . . | 0,1 |
| Zitronensaft . . . . . | 0,5—0,8 | Fichtennadeln . . . . . | 0,8 |
| Orangen . . . . . . . | 0,3—0,9 | Kiefernnadeln . . . . . | 0,25 |
| Orangenschalen . . . . | 0,2—0,5 | Tannennadeln-Aufguß . . | 1,6 |
| Mandarinen . . . . . . | 0,25 | | |
| Limonen . . . . . . . | 0,2 | Tierische Organe: | |
| Grapefruit . . . . . . | 0,5 | Nebennierenrinde (Rind) . | 1,8 |
| Äpfel . . . . . . . . | 0,04 | Nebennierenmark ( „ ) . | 1,0 |
| Birnen . . . . . . . . | 0,04 | Nebennieren (Ratte) . . | 4,5 |
| Bananen . . . . . . . | 0,05—0,1 | Corpus luteum . . . . | 1,4—2,3 |
| Ananassaft . . . . . . | 0,2 | Thymus . . . . . . . | 0,6 |
| Gurken . . . . . . . . | 0,04—0,08 | Hypophysenvorderlappen . | 1,5 |
| Tomaten . . . . . . . | 0,05 | „ -hinterlappen . | 1,0 |
| Roter Pfeffer . . . . . | 0,13 | Milz . . . . . . . . | 0,4 |
| Süßer Pfeffer . . . . . | 1—2 | Gehirn . . . . . . . . | 0,1—0,4 |
| Judenkirsche . . . . . | 0,25 | Ovar . . . . . . . . . | 0,1—0,4 |
| „ , Saft . . . | 1,0 | Testes . . . . . . . . | 0,1—0,4 |
| Schwarze Johannisbeeren . | 0,1—0,5 | Follikelflüssigkeit . . . . | 0,2 |
| Vogelbeeren . . . . . | 0,2 | Schilddrüse . . . . . . | 0,16—0,23 |
| Moosbeeren . . . . . . | 0,04—0,08 | Pankreas . . . . . . . | 0,17—0,27 |
| „ , Saft . . . . | 0,05—0,1 | Muskel . . . . . . . | 0,1 |
| Mohrrüben . . . . . . | 0,01—0,025 | Leber . . . . . . . . | 0,08—0,17 |
| Kartoffeln . . . . . . | 0,1—0,15 | Urin . . . . . . . . | 0,018—0,04 |
| Rüben . . . . . . . . | 0,2 | Galle (Schwein) . . . . | 0,7 |
| Kohl . . . . . . . . . | 0,25—0,5 | Frauenmilch . . . . . | 0,04—0,07 |
| Erbsensämlinge . . . . | 0,5 | Kuhmilch . . . . . . | 0,01 |

Vitamin-C-haltigen Lösungen zur farblosen Leukoverbindung reduziert, was eine titrimetrische Bestimmung des Vitamins ermöglicht[6]). Auf Grund dieser Reaktion konnte das Vitamin in den Extrakten angereichert und so schließlich in krystalliner Form erhalten werden. Das Vitamin wurde zunächst als eine Hexuronsäure angesehen. Erst später wurden die von einer Hexuronsäure ganz verschiedenen Eigenschaften voll erkannt und die Substanz erhielt von Szent-Györgyi[7]) den Namen l-Ascorbinsäure.

Die Aufklärung der Konstitution erfolgte in der Hauptsache durch F. Micheel und K. Kraft[8]), W. N. Haworth und E. L. Hirst[9]) sowie P. Karrer und Mitarb.[10]).

Vitamin C gibt einen Tetramethyläther, besitzt also 4 aktive

[6]) S. S. Zilva, Biochemic. J. **21**, 689 (1927); J. Tillmans. Z. Unters. Lebensmittel **56**, 272 (1928).

[7]) Nature **131**, 24 (1933).

[8]) Z. physiol. Chem. **222**, 235 (1933).

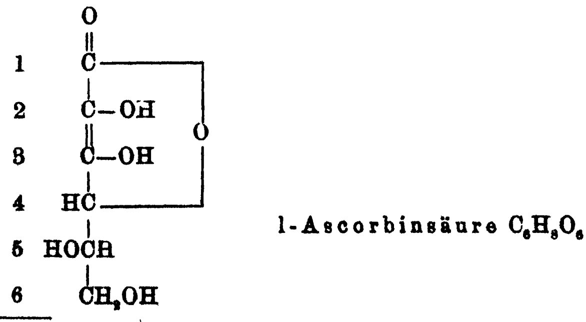
[9]) J. chem. Soc. London **1933**, 1270.

[10]) Helv. chim. acta **16**, 302 (1933); Biochem. Ztschr. **258**, 4 (1933).

Wasserstoffatome. Davon besitzen zwei saure Eigenschaften, wie aus der Bildung einer Dimethylverbindung mit Diazomethan hervorgeht. Diese Dimethylverbindung reduziert nicht mehr und gibt eine Acetonverbindung. Damit ist der alkoholische Charakter und die benachbarte Stellung von zwei Hydroxylen aufgedeckt. Eine dieser beiden Hydroxylgruppen ist primär, denn sie gibt mit Triphenylchlormethan eine Tritylverbindung.

Durch Ozonspaltung des Tetramethyläthers oder der freien Ascorbinsäure selbst erhält man Oxalsäure und l-Threonsäure bzw. deren Derivate. Damit ist eine Doppelbindung im Molekül nachgewiesen. In der Ascorbinsäure liegt eine ziemlich stabile Sauerstoffbrücke vor, da man bei allen Abbaureaktionen als Zwischenprodukte entsprechende Ester erhält. Da bei der Behandlung mit Mineralsäuren Kohlendioxyd und Furfurol und bei der katalytischen Hydrierung l-Idonsäure entsteht, muß die Kohlenstoffkette unverzweigt sein. Die Ringweite wurde durch Oxydation des Dimethylderivats mit Bleitetracetat bewiesen, denn es entstehen 0,7 Mol. Formaldehyd, was nur möglich ist, wenn der primären Alkoholgruppe eine weitere OH-Gruppe benachbart ist. Es kann also auf einen $\gamma$-Lactonring geschlossen werden, der sich auch aus der Konstitution der bei der Ozonspaltung der Tetramethylascorbinsäure erhaltenen Dimethyl-l-threonsäure ergibt.

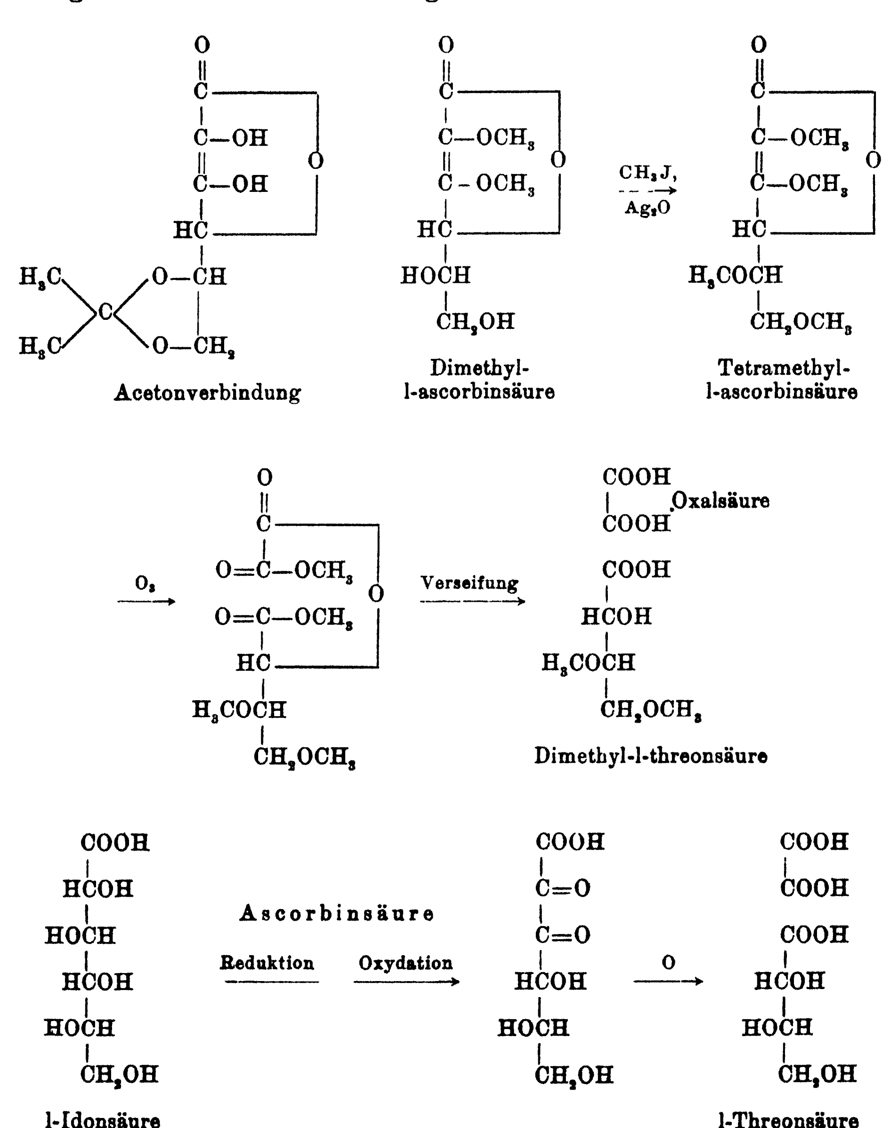
Als Ursache der sauren Reaktion und der Reduktionskraft wurde auf Grund von theoretischen Überlegungen und durch Vergleiche mit einfacheren Körpern eine Endiolgruppe erkannt. Diese steht in Nachbarschaft zu einer Lactoncarbonylgruppe. Die chemische Bezeichnung der Ascorbinsäure ist demnach: 1-Threo-3-ketohexonsäure-lacton. Die Konfiguration der Verbindung wurde durch die von T. Reichstein [11]) durchgeführte Synthese bestätigt. Vitamin C (l-Ascorbinsäure) hat demnach folgende Konstitution:




l-Ascorbinsäure $C_6H_8O_6$

[11]) Helv. chim. acta **16**, 561 (1933); **17**, 510 (1934).

Die wichtigsten Reaktionen, welche zur Ermittlung der Konstitution geführt haben, sind in den folgenden Formelbildern erläutert:




Die Endiolgruppierung ist für die stark saure Reaktion und die Reduktionskraft verantwortlich. Der Mono-methyläther verhält sich wie ein Phenol, das nicht reduziert und eine rote Eisenchloridreaktion gibt. Die wichtigsten Eigenschaften der Ascorbinsäure sind

daher an die Anwesenheit zweier freier Hydroxyle der Endiolstruktur gebunden. Außerdem ist die tautomere Form des α-Oxyketons möglich gemäß folgendem Formelbild:

```
   O
   ‖
   C ─────┐
   |      |
   C—OH   |
   ‖      O          —CO—C=C—   ⟵⟶   —CO—C—C—
   C—OCH₃ |              |  |            ‖  |
   |      |              OH OH           O  OH
  HC ─────┘                                (H am rechten C)
   |
HOCH
   |
   CH₂OH
```

Mono-methyläther

Die Endiolgruppierung kann durch Benzoldiazoniumchlorid gesprengt werden[12].

```
                      O
                      ‖
                      C ───┐
                      |    |
H₅C₆—NH—NH—C=O    O
                           |
              ┌────C=O     |
              |    |       |
              |    HC ─────┘
              O    |
              |  HOCH
              |    |
              └────CH₂
```

Die Dehydrierung (Oxydation) der Ascorbinsäure verläuft sehr leicht und ist reversibel. Die Dehydro-ascorbinsäure verbindet sich außerordentlich leicht mit Phenylhydrazin zu Dehydro-ascorbinsäure-osazonen[13], die durch Alkali in Pyrazolone umgewandelt werden[14]. Ascorbinsäure selbst wird von Phenylhydrazin im Überschuß erst dehydriert, worauf dieselbe Verbindung entsteht.

---

[12]) H. Ohle und H. Erlbach, Ber. **67**, 324, 555, 1750 (1934); **68**, 534 (1935).

[13]) E. L. Hirst und Mitarb., J. chem. Soc. London **1933**, 1270.

[14]) Y. Kotake, Z. physiol. Chem. **219**, 224 (1933); K. Tasemaka, Z. physiol. Chem. **225**, 275 (1934); K. Hinsberg und R. Ammon, Biochem. Ztschr. **288**, 102 (1936); **290**, 125 (1937).

```
  O                               O
  ‖                               ‖
  C———————┐                       C———————┐
  |       |                       |       |
  C—OH    |          —2 H         C=O     |
  ‖       O        ———————→       |       O
  C—OH    |                       C=O     |
  |       |          + 2 H        |       |
 HC———————┘        ←———————      HC———————┘
  |                               |
HOCH                            HOCH
  |                               |
  CH2OH                           CH2OH
```

```
                         O                              OH
                         ‖                             /
            C6H5         C———————┐                    C————————N—C6H5
            |            |       |                    ‖        |
Phenyl-     NH—N=C               |    H5C6—N=N—C               |
———————→                 |       O                    |        |
hydrazin    NH—N=C               |                    C========N
            |            |       |      NaOH          |
            C6H5        HC———————┘    ———————→       HCOH
                         |                            |
                       HOCH                          HOCH
                         |                            |
                         CH2OH                        CH2OH
```

Dehydro-ascorbinsäure-osazon

Mit o-Phenylendiamin liefert Dehydro-ascorbinsäure Kondensationsprodukte, die bei der Einwirkung von Salzsäure folgendes Chinoxalinderivat geben[12]):

```
                 O
                 ‖
             N   C———————┐
      /\    //   |       |
     |  |--/     C       |
     |  |        |       O
     |  |--\     C       |
      \/    \\   |       |
             N  HC———————┘
                 |
               HOCH
                 |
                 CH2OH
```

Physikalische Eigenschaften: l-Ascorbinsäure krystallisiert in mikroskopischen Nadeln, die bei 192° schmelzen. Bruttoformel: $C_6H_8O_6$. Die spezifische Drehung ist vom Lösungsmittel, von der Konzentration und vom pH abhängig. $[\alpha]_D$ in Wasser, c = 1% beträgt + 24°; c = 1,6% = + 23°; c = 2,2% = + 22,4°; c = 14% = + 20,0°. $[\alpha]_D$ in Methanol, c = 0,85% = + 48°. $[\alpha]_D$ in n/2-Salz- oder Schwefel-

säure = + 22°. Das Na-Salz zeigt $[\alpha]_D = +105°$. In Alkali abgebenden Gefäßen zeigt sich Mutarotation.

Das Vitamin C hat eine scharfe Absorptionsbande bei 265 mμ. Unter gewöhnlichen Bedingungen nimmt sie rasch ab, zeigt dagegen ihre wahre Höhe in schwach sauren Lösungen und in Anwesenheit von Blausäure oder Reduktionsmitteln. Geeignet sind ein pH = 5 und Zusatz von KCN. $K = 26 \cdot 10^3$.

Das Redoxpotential, das sich wegen der raschen Hydrolyse der Dehydro-ascorbinsäure nur schwer bestimmen läßt, hängt vom pH weitgehend ab. $E'_0 = +0{,}127$ Volt. Der stark saure Charakter der Ascorbinsäure wird durch die beiden benachbarten alkoholischen Hydroxyle bedingt. Für eine $^1/_{10}$ molare Lösung ist das pH = 2,2. Die Ascorbinsäure fungiert als einbasische Säure; das H-Atom eines der beiden Hydroxyle dissoziert in wäßriger Lösung ab. Dissoziationskonstante: $p_{K_1} = 4{,}20$; $p_{K_2} = 11{,}8$ (16°). Vitamin C gibt ein neutrales Mononatriumsalz. Das 2. saure Hydroxyl besitzt nur die Stärke eines Phenols.

l-Ascorbinsäure ist in kaltem Wasser sehr leicht löslich. Die Löslichkeit in Alkoholen nimmt mit zunehmender Anzahl der C-Atome im Molekül des Alkohols ab. So ist sie in Methylalkohol noch gut löslich, in Äthylalkohol schon schwerer, in Amylalkohol schwer löslich. In Aceton ist das Vitamin mäßig löslich. In Äther, Benzol, Benzin und Chloroform ist Vitamin C unlöslich. Aus nicht zu verdünnten alkoholischen Lösungen, ebenso aus Aceton, kann es durch Äther oder Petroläther ausgefällt werden. Ascorbinsäure gehört also zu den wasserlöslichen, aber in Fett unlöslichen Vitaminen.

Chemische Eigenschaften: Vitamin C ist eine außerordentlich empfindliche Substanz, die besonders in Lösungen rasch oxydiert wird. Reines, krystallisiertes Vitamin C ist gegen Sauerstoff beständig. In saurer Lösung ist es auch ziemlich beständig. Am günstigsten sind Lösungen mit einem pH = 5—6. Gewisse Antioxydantien schützen das Vitamin, so z. B. SH-Verbindungen wie Glutathion. Die Anwesenheit dieser Stoffe in der Pflanzenzelle bewirkt einen gewissen Schutz des Vitamins gegen Oxydationen.

In neutralen und alkalischen Lösungen ist die Beständigkeit der Ascorbinsäure sehr gering. Durch Einleiten von Luft in eine neutrale oder schwach saure Lösung wird das Vitamin schnell zerstört, was bei höheren Temperaturen (z. B. schon bei 60°) noch beschleunigt wird. Die Ursache für die Vitamin-C-Armut vieler Konserven und Nahrungsmittel beruht auf einer diese Empfindlichkeit außer acht lassenden Zubereitung.

Im allgemeinen stellt die schnelle Oxydierung des Vitamins eine Schwermetallkatalyse dar; Spuren von Kupfer wirken hier katalytisch. So kann Cyanwasserstoff infolge Inaktivierung der Katalysatoren die Oxydation hemmen. In schwermetallfreiem Wasser ist Vitamin C selbst gegen reinen Sauerstoff verhältnismäßig stabil. Dagegen ist das Arbeiten in Gefäßen aus Kupfer oder Kupferlegierungen zu vermeiden. Auch die verwendeten Reagenzien müssen kupferfrei sein.

Die Sauerstoffübertragung durch Schwermetalle ist nicht die einzige Ursache für die Sauerstoffempfindlichkeit der Ascorbinsäure. Auch die Wirkung verschiedener Fermente spielt bei der Zerstörung des Vitamins C in natürlichen Ausgangsmaterialien eine Rolle. Es empfiehlt sich daher, Extrakte kurz aber intensiv aufzukochen, da dabei die oxydationsfördernden Fermente schnell zerstört werden. Bei langdauerndem Erwärmen auf niedrigere Temperaturen wird die Tätigkeit dieser Fermente nur gesteigert[15]).

Die hohe Reduktionskraft der Ascorbinsäure zeigt sich im Verhalten gegen die verschiedensten chemischen Substanzen. Nur wenige im lebenden Organismus vorhandene Stoffe übertreffen in dieser Hinsicht das Vitamin C, z. B. das Glutathion. Jod, Silbernitrat, Ferrichlorid, Kaliumpermanganat, selenige Säure, Chinon, Dinitrobenzol usw. werden leicht und schnell reduziert. Jod wird auch in stark saurer Lösung entfärbt. Farbstoffe werden in ihre Leukoform überführt. So wird Methylenblau entfärbt, was durch geringe Mengen von Kupfersalzen oder Thiosulfat und durch Belichten beschleunigt werden kann. Auf dieser Eigenschaft des Vitamins C beruht eine wichtige Bestimmungsmethode der Ascorbinsäure: 2.6-Dichlorphenol-indophenol wird von Vitamin C entfärbt, was titrimetrisch verfolgt werden kann.

Die Oxydation der Ascorbinsäure verläuft unter Abgabe von 2 H-Atomen und es entsteht die Dehydroascorbinsäure. Diese Reaktion ist reversibel. In alkalischem Medium geht die Oxydation unter irreversibler Aufspaltung des Moleküls weiter.

Gegen Temperaturerhöhung ist Vitamin C sehr empfindlich. Das krystallisierte Vitamin wird beim Erhitzen auf 100° selbst unter Luftabschluß zerstört. In saurer Lösung und unter möglichstem Ausschluß von Luft wird kurzes Erhitzen auf 100° ohne nennenswerte Schädigung vertragen. Man arbeitet daher zweckmäßig immer im Vakuum, wenn Lösungen oder Extrakte des Vitamins einzudampfen sind.

Aktivkohle inaktiviert Ascorbinsäure durch Sauerstoffwirkung.

---

15) Z. J. Kertesz, J. biol. Chem. **116**, 717 (1937).

Mit Salzsäure erhitzt, gibt Ascorbinsäure Furfurol. Mit Aceton und etwas Schwefelsäure oder Kupfersulfat entsteht die Acetonverbindung. Mit Ozon entsteht Oxalsäure. Erhitzen einer alkalischen Lösung entwickelt Kohlensäure.

Ascorbinsäure katalysiert eine Reihe von Reaktionen. So wird die Autoxydation von Milchsäure, Leinöl und Zucker beschleunigt. Die Kondensation von Formaldehyd zu echten Zuckern in Gegenwart von Calciumhydroxyd wird ebenfalls gefördert[16]).

Biologische Eigenschaften: Standard: Für die biologische Wertbestimmung werden meistens Meerschweinchen verwendet, da sie wie der Mensch auf die Zufuhr des C-Vitamins mit der Nahrung angewiesen sind. Als Meerschweinchen-Einheit (M.E.) bezeichnet man die kleinste Tagesmenge, die ein Meerschweinchen vom Durchschnittsgewicht von 200 g mindestens 60 Tage vor Skorbut schützt. Diese Menge beträgt 0,5 mg l-Ascorbinsäure. Ein Zehntel dieser Menge, also 0,05 mg reinster krystallisierter l-Ascorbinsäure bildet die Internationale Einheit. Sie entspricht 0,1 ccm Zitronensaft (alte Intern. Einheit).

Biologie: Die l-Ascorbinsäure ist der bisher einzige natürliche Skorbutschutzstoff. Sie kommt sowohl frei als l-Ascorbinsäure, als auch als Dehydro-l-ascorbinsäure und in einer gebundenen Form (Ascorbigen) vor. Alle drei Formen wirken als Vitamin. Die gebundene Form ist bisher nicht rein dargestellt worden. Ihr Vorkommen gilt jedoch als gesichert. Daneben gibt es eine ganze Anzahl synthetisch dargestellter Verbindungen vom Typus der l-Ascorbinsäure, die eine mehr oder minder starke Antiskorbutwirksamkeit besitzen.

Über den genauen Mechanismus der Wirkung, die die Ascorbinsäure im Organismus übernimmt, ist noch nichts Abschließendes bekannt. Es ist jedoch anzunehmen, daß das Redoxsystem der Endiolgruppe als Sauerstoffakzeptor und folgender Wasserstoffakzeptor dabei von großer Bedeutung ist. Für das normale Funktionieren wichtiger Lebensvorgänge ist die Ascorbinsäure unbedingt notwendig.

Die Oxydation der Ascorbinsäure als reversibler Vorgang hat zu manchen Einblicken in die biologische Bedeutung des Vitamins C geführt. Man unterscheidet zweckmäßig zwischen der durch Schwer-

---

[16]) W. P. Jorissen und A. H. Belinfante, Rec. trav. chim. Pays-Bas **55**, 374 (1936); P. Holz, Arch. exp. Path. Pharm. **182**, 98, 109 (1936); E. S. West und L. F. Ney, Science **84**, 294 (1936).

metalle katalysierten und der fermentativen Oxydation.

A. Die Schwermetallkatalyse: Unter diese Gruppe von Oxydationen fällt besonders die Wirkung der Kupfersalze, die in kleinen Mengen die Oxydation stark beschleunigen. Dieser Katalyse wirken Glutathion und Kaliumcyanid entgegen. Andere Sauerstoffüberträger sind Eisensalze, besonders aber Eisenkomplexe, die sich in lebenden Organismen befinden: Hämin, Hämochromogen usw. Hämochromogen und Sauerstoff dehydrieren die Ascorbinsäure unter gleichzeitiger Oxydation des Hämochromogens zu Verdohämin, das zu den Gallenfarbstoffen gehört[17]). Anwesendes Glutathion bewirkt Reduktion der gebildeten Dehydro-ascorbinsäure.

B. Fermentoxydation: Man findet im Pflanzenreich weit verbreitet Vitamin C oxydierende Fermente, die aber im Tierreich anscheinend vollständig fehlen. Im Kürbis und in anderen Pflanzen findet sich eine Vitamin-C-Oxydase als selbständiges Ferment[18]). Andere Fermente, besonders die Phenoloxydasen und die Peroxydasen vermögen die Ascorbinsäure nur in Gegenwart von anderen Oxydationsmitteln zu oxydieren. Die Vitamin-C-Oxydase oxydiert die Ascorbinsäure und ihre Isomeren verschieden schnell. Die Geschwindigkeit der Oxydation ist von der Konfiguration des Kohlenstoffatoms 4 abhängig, indem Isomere mit d-Konfiguration an diesem C-Atom schneller oxydiert werden als solche mit l-Konfiguration.

Die Phenoloxydasen oxydieren Ascorbinsäure in Gegenwart von Brenzcatechin und anderen mehrwertigen Phenolen, indem diese zunächst durch die Oxydase in o-Chinone übergeführt werden, die nun ihrerseits die Ascorbinsäure oxydieren und dabei in Phenole zurückverwandelt werden. In ähnlicher Weise verläuft die Einwirkung der Peroxydasen, die nur in Anwesenheit von Peroxyden und Brenzkatechin oxydieren.

Die fermentative Oxydation wird durch Anwesenheit von SH-Glutathion und ähnlichen Verbindungen verhindert.

Fermentartige Wirkungen des Vitamins C: Das Vitamin C vermag gewisse Fermente zu ersetzen; so vertritt es das durch Erhitzen inaktivierte Schardinger-Enzym der Milch[19]). Eine

---

[17]) E. S. G. Barron und Mitarb., J. biol. Chem. **112**, 625 (1936); **116**, 563 (1936); R. Lemberg und Mitarb., Biochemic. J. **32**, 149 (1938); H. Fischer und H. Liboritzky, Z. physiol. Chem. **251**, 198 (1937).

[18]) H. Tauber und J. S. Kleiner, J. biol. Chem. **110**, 559 (1935).

[19]) G. Woker und J. Antenner, Helv. chim. acta **20**, 144 (1937).

andere fermentartige Wirkung entwickelt das Vitamin C bei der oxydativen Desaminierung von Aminosäuren, von denen besonders das Histidin leicht angegriffen wird. SH-Verbindungen und Eisensalze können die Reaktion beschleunigen. Aus Glykokoll und Alanin wurden auf diese Weise Form- bzw. Acetaldehyd isoliert[20]). In Verbindung mit einem spezifischen Protein soll Ascorbinsäure als Esterase wirken[21]).

Über die Einwirkung der Ascorbinsäure auf gewisse Fermente im Sinne einer Aktivierung ist im allgemeinen nichts Sicheres bekannt. Die Beeinflussung kann sehr verschiedenartig erfolgen und einmal als Aktivierung, das andere Mal als Hemmung bei ganz nahverwandten Fermenten erfolgen.

Ascorbigen: In der Pflanze liegt das Vitamin C zu 70% in gebundener Form vor. Über diese Form ist noch wenig bekannt. Man gewinnt sie durch Chloroformextraktion der getrockneten Pflanzenteile. Das Ascorbigen ist gegen oxydierbar Fermente und Farbstoffe (Dichlorphenol-indophenol) beständig. Es hat die gleiche biologische Aktivität wie Ascorbinsäure selbst[22]).

Konstitution und Wirksamkeit: Die Synthese des Vitamins C ermöglichte die Darstellung einer großen Anzahl von Isomeren der Ascorbinsäure nach den gleichen Verfahren. Der systematische Aufbau solcher Verbindungen von den einfachsten Vertretern bis zu höhermolekularen Isomeren gestattet den Vergleich zwischen biologischer Wirkung und chemischer Konstitution. Die dargestellten Isomeren sind zum Teil recht wirksam, zum Teil aber viel weniger wirksam als Ascorbinsäure. Andere besitzen überhaupt keine antiskorbutische Wirkung am Meerschweinchen.

Es ließ sich eine Reihe von Gesetzmäßigkeiten ableiten, die zur biologischen Wirksamkeit unbedingt notwendig sind:

1. Die Gruppierung 1—4 ist für die Vitamin-Eigenschaft unerläßlich. Diese Gruppierung darf keine Veränderungen erleiden, wenn die

---

[20]) E. Abderhalden, Fermentforsch. **15**, 285, 360 (1937); S. Edlbacher und A. v. Segesser, Biochem. Ztschr. **290**, 370 (1937); P. Holz und G. Triem, Z. physiol. Chem. **248**, 1, 5 (1937).

[21]) H. Kraut und W. v. Pantschenko-Jurewicz, Biochem. Ztschr. **258**, 406 (1936).

[22]) E. Fujita und D. Iwatake, Biochem. Ztschr. **277**, 293 (1935); **290**, 172, 182, 192 (1937); M. v. Eekelen, Nature **136**, 144 (1936); **137**, 946 (1937); B. C. Guha, Nature **141**, 974 (1937); L. F. Levy, Nature **138**, 933 (1936).

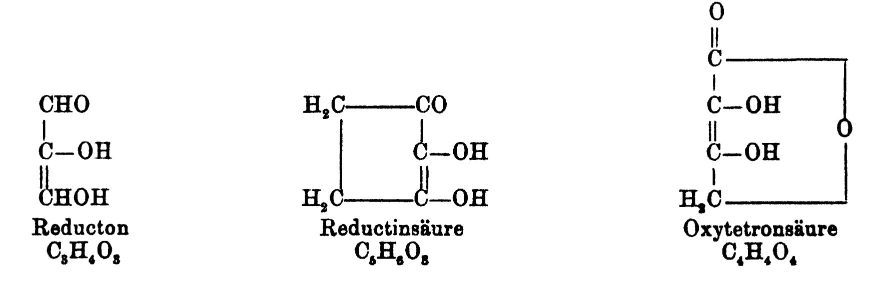
Aktivität erhalten bleiben soll. Vor allem muß die d-Konfiguration am C-Atom 4 vorhanden sein.

2. Die hydroxylhaltige Seitenkette (C-Atome 5 und 6) muß im Molekül vorhanden sein. Die Oxytetronsäure mit der Konstitution der C-Atome 1—4, aber mit einem H-Atom an Stelle der hydroxylreichen Seitenkette, ist biologisch inaktiv.

3. Die OH-Gruppe am Kohlenstoff 5 ist für die Wirkung nicht unbedingt ausschlaggebend. Ihr Fehlen bewirkt jedoch eine starke Verminderung der Wirksamkeit.

4. Die l-Konfiguration am C-Atom 5 ist nicht notwendig, aber für die optimale Wirkung günstig. Das gleiche gilt für das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe am C-Atom 6. Verbindungen, die den Anforderungen des Punktes 4 nicht entsprechen, besitzen nur einen Teil der Wirksamkeit der Ascorbinsäure.

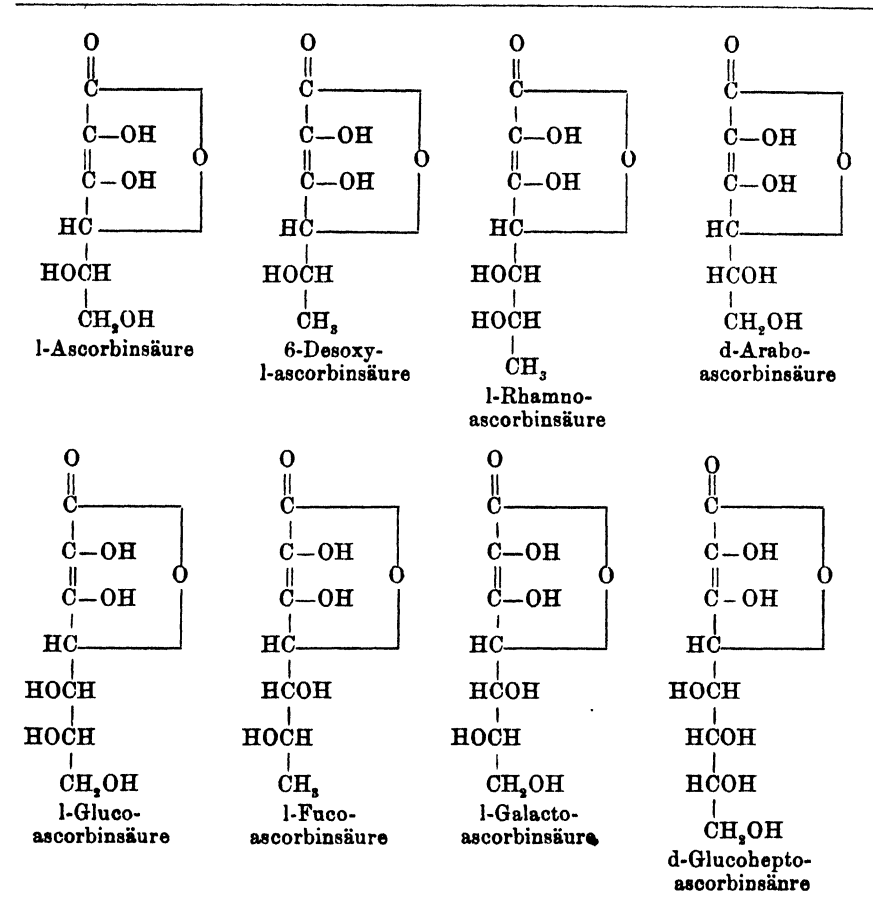
Die folgenden Formelbilder zeigen eine Reihe von Verbindungen, die trotz ihrer äußeren Ähnlichkeit mit der Ascorbinsäure nicht aktiv sind. Sie erfüllen, wie leicht zu sehen ist, nicht alle Bedingungen der Punkte 1 und 2.




In der Tabelle 19 sind die wichtigsten bisher dargestellten Verbindungen mit C-Wirksamkeit zusammengestellt.

Tabelle 19

| Bezeichnung | Schmp. ° | $[\alpha]_D$ | Wirksamkeit (Vit. C = 1) |
|---|---|---|---|
| l-Xylo-ascorbinsäure (Vitamin C) . . | 192 | + 24° | 1 |
| 6-Desoxy-l-ascorbinsäure . . . . . . | — | — | 1/3 |
| l-Rhamno-ascorbinsäure . . . . . . | 197—199 | + 27,8° | 1/5 |
| d-Arabo-ascorbinsäure . . . . . . . | 174 | — 18,5° | 1/20 |
| l-Gluco-ascorbinsäure . . . . . . . | — | — | 1/40 |
| l-Fuco-ascorbinsäure . . . . . . . | — | — | 1/50 |
| l-Galacto-ascorbinsäure . . . . . . | 135 | + 77° | 1/60 |
| d-Glucohepto-ascorbinsäure . . . . . | — | — | 1/[illegible] |

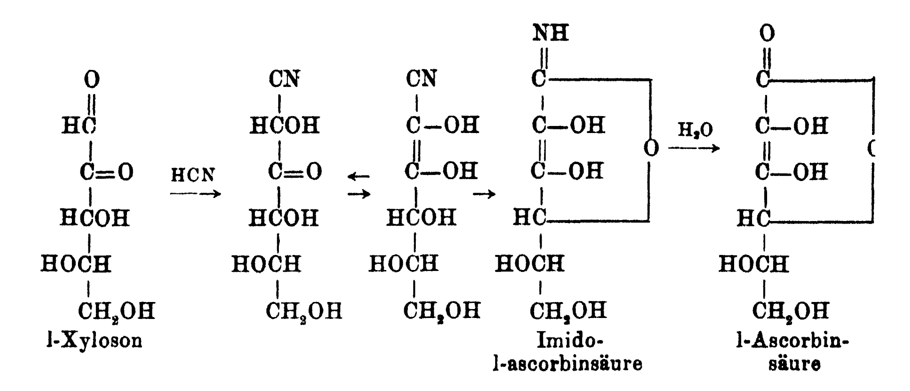



Auch in hohen Dosen vollkommen unwirksam sind folgende synthetische Isomere: d-Xylo-ascorbinsäure; l-Arabo-ascorbinsäure; d-Galakto-ascorbinsäure; d-Gluco-ascorbinsäure; l-Gulo-ascorbinsäure; l-Alloascorbinsäure; l-Erythro-ascorbinsäure; Lacto-ascorbinsäure; Malto-ascorbinsäure; 2-Desoxy-2-amino-l-ascorbinsäure; Imido-d-gluco-hepto-ascorbinsäure.

Synthese der l-Ascorbinsäure: Es gibt vor allem zwei grundsätzliche Wege zur Synthese der l-Ascorbinsäure.

1. Die Oson-Blausäure-Methode geht von der l-Xylose aus, die in das l-Xyloson überführt wird. Nach Anlagerung von Blausäure an die Aldehydgruppe des Xylosons und Umlagerung des Cyanhydrins in das cyclische Imid der l-Ascorbinsäure entsteht aus letzterem durch Hydrolyse die l-Ascorbinsäure[23]):

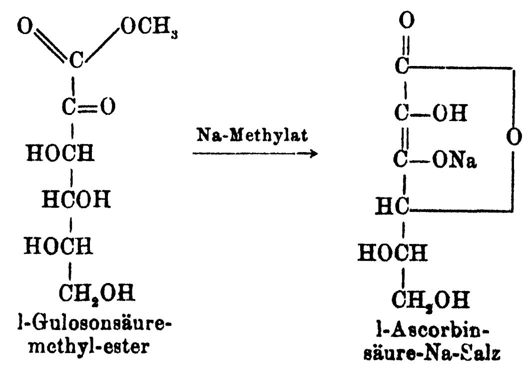
[23]) T. Reichstein u. Mitarb., Helv. chim. acta **16**, 561 (1933); **17**, 510 (1934); W. N. Haworth u. E. L. Hirst, J. chem. Soc. Lond. **1933**, 1419; **1934**, 62.




Die l-Xylose wird auf folgendem Wege erhalten[24]): Sorbit wird in Mono-benzalsorbit überführt. Dieser gibt bei der Oxydation mit Bleitetraacetat Benzal-l-xylose, die durch Hydrolyse die freie l-Xylose in 70% Ausbeute, bezogen auf Monobenzalsorbit, liefert.

2. Die l-Gulosonsäure-Methode: d-Glucose wird durch Reduktion in Sorbit überführt, der durch Oxydation mit Bacterium xylinum in l-Sorbose umgewandelt wird. Diaceton-l-sorbose wird zu Diaceton-l-gulosonsäure oxydiert. Die freie l-Gulosonsäure kann auf zwei Wegen in l-Ascorbinsäure überführt werden:

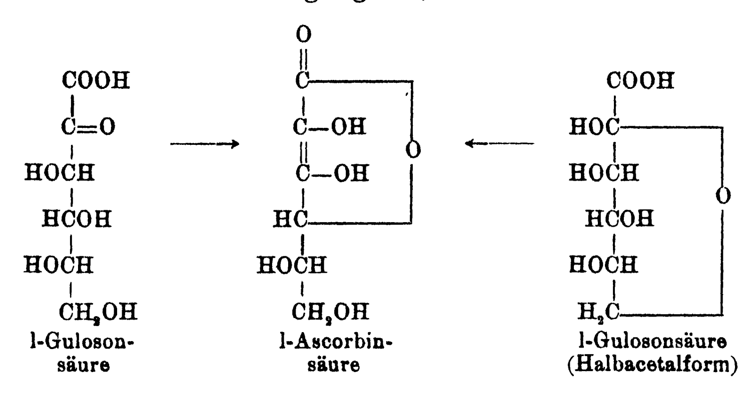
a) l-Gulosonsäure-methyl-ester wird mit Natriummethylat unter Abspaltung der Methylgruppe in l-Ascorbinsäure umgelagert[25]).




[24]) L. v. Vargha, Ber. **68**, 18 (1935).

[25]) F. Micheel und K. Kraft, Naturwiss. **22**, 205 (1934); F. Micheel, K. Kraft und W. Lohmann, Z. physiol. Chem. **225**, 13 (1934); T. Reichstein und A. Grüssner, Helv. chim. acta **17**, 317 (1934).

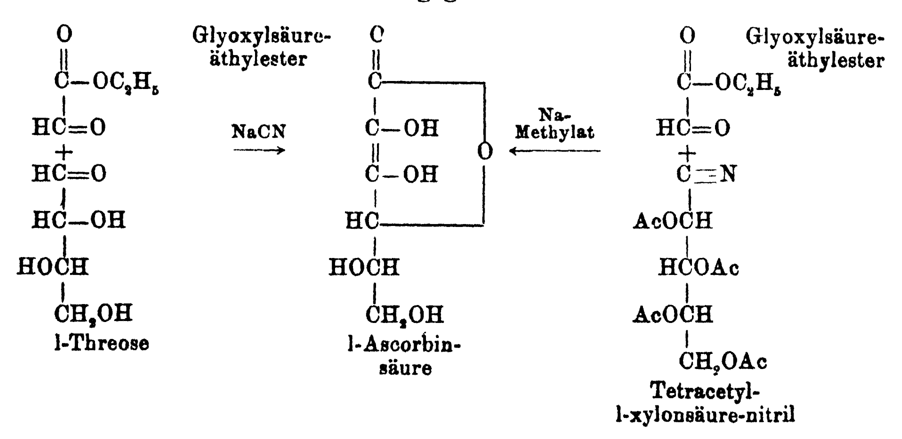
b) Die freie l-Gulosonsäure wird durch Säuren unter Wasserausschluß in l-Ascorbinsäure umgelagert[25]).




P. P. Sah[26]) stellt die l-Gulosonsäure auf folgendem Wege her: Stärke → d-Zuckersäure → d-Zuckersäure-$\gamma$-lacton → l-Gulonsäure → l-Gulonsäure-$\gamma$-lacton → l-Gulose → l-Guloson → l-Gulosazon → l-Gulosonsäure.

Von diesen beiden Darstellungsmethoden verschieden ist eine 3. Synthese, die von B. Helferich[27]) beschrieben wird:

Glyoxylsäure-ester setzt sich in alkalischem Medium mit l-Threose unter Lactonbildung gleich zum Vitamin C um:




Man kocht Glyoxylsäure-äthylester und l-Threose in Methanol in Gegenwart von Cyannatrium unter Stickstoffatmosphäre. Die l-Threose wird aus l-Xylose durch Abbau nach Zemplén gewonnen. Das dabei

[26]) P. P. Sah, Ber. 69, 158 (1936).
[27]) Ber. 70, 465 (1937).

gewonnene Tetracetyl-xylonsäure-nitril läßt sich direkt mit Glyoxylsäure-äthylester durch Natrium-methylat kondensieren, wobei die Acetylgruppen und die Nitrilgruppe abgespalten werden.

Die beschriebenen Methoden zur Synthese der Ascorbinsäure lassen sich unter entsprechender Auswahl der Ausgangssubstanzen auch zur Synthese der Isomeren verwenden.

Nachweis und Bestimmung *): Vitamin C gibt eine Anzahl von Farbreaktionen, die alle auf der stark reduzierenden Eigenschaft des Vitamins beruhen. So wird Fehlingsche Lösung, Permanganat und Silbernitrat schon in der Kälte reduziert. Das Reagens von Bezssonoff[28]) (Molybdän-phosphorwolfram-säure) gibt mit Vitamin C eine blauviolette Färbung. Nitrosoprussidnatrium gibt eine dunkelblaue, in Grün und Rot umschlagende Färbung. Eine schwefelsaure Lösung von Titansulfat gibt mit Vitamin C in Gegenwart von Natriumcarbonat eine rotbraune Farbe.

Die quantitative Vitamin-C-Bestimmung macht einige Schwierigkeiten in Hinsicht auf das Verhältnis zwischen dem Gehalt an reduzierenden Bestandteilen und biologischer Wirksamkeit. In den lebenden Organismen finden sich außer Ascorbinsäure noch andere, ebenfalls stark reduzierende Substanzen, die sich ähnlich wie Ascorbinsäure verhalten, aber keinerlei Vitamin-C-Eigenschaften besitzen. Es ist vor allem notwendig das Vitamin selbst schonend und doch vollständig aus den tierischen oder pflanzlichen Materialien zu extrahieren. Da außerdem ein Teil der Ascorbinsäure immer als Dehydro-ascorbinsäure vorliegt, ein anderer Teil in der gebundenen und nicht reduzierenden Form, ist es notwendig, die Organe heiß zu extrahieren und anschließend zu reduzieren. Man arbeitet zweckmäßig in saurer Lösung. Zur Abtrennung von unspezifischen, ebenfalls reduzierenden Substanzen wird vorher mit Merkuri-acetat gefällt.

Die wichtigste und am meisten angewandte Bestimmungsmethode ist die Titration mit 2.6-Dichlorphenol-indophenol, die von J. Tillmans[29]) ausgearbeitet und von anderen Autoren[30]) modifiziert wurde. Die Reaktion ist in Gegenwart von Eisensalzen nicht durchführbar, auf tierische Organe ist sie im allgemeinen nicht anzuwenden.

---

*) Weitere Methoden siehe das zit. Buch von F. Gstirner, Chem. Vitamin-Bestimmungs-Methoden. F. Enke, Stuttgart 1939.

[28]) N. Bezssonoff und E. Stoerr, Z. Vitaminforsch. **5**, 193 (1936); F. Plaut und Mitarb., Z. physiol. Chem. **234**, 131 (1935).

[29]) Z. Unters. Lebensmittel **56**, 272 (1928).

[30]) H. Strohecker und R. Vaubel, Z. angew. Chem. **49**, 666 (1936)

Die Titration wird in schwach saurer Lösung (pH = 5) durchgeführt, wobei der blaue Farbstoff entfärbt wird. In stark saurer Lösung (pH = 2 bis 3) wird der Farbstoff rot.

Die Farbstofflösung wird hergestellt, indem man etwa 0,16 bis 0,17 g 2.6-Dichlorphenol-indophenol in 100 ccm destilliertem warmem Wasser aufschwemmt. Der Farbstoff löst sich nach einiger Zeit bis auf geringe Reste. Man filtriert durch ein Faltenfilter in einen 1000 ccm Meßkolben und füllt mit destilliertem Wasser auf. Die so hergestellte Lösung ist im Eisschrank und im Dunkeln bis 4 Wochen gut haltbar.

Zur Einstellung wird durch Einwaage von genau 3,9215 g Mohrschem Salz (pro analysi) und Lösen in destilliertem Wasser, sowie Auffüllen auf 1 Liter eine genau 0,01-n-Lösung von Mohrschem Salz hergestellt. Beim Auffüllen gibt man zur besseren Haltbarkeit 40 ccm $^1/_2$-n-Schwefelsäure zu.

Zu 10 ccm Farbstofflösung gibt man 5 ccm einer gesättigten Natriumoxalat-Lösung oder eine Messerspitze festes Natriumoxalat und titriert mit der Ferrolösung aus einer Feinbürette. Der Umschlag von Blau nach Gelb ist gut sichtbar. Der Faktor ist gleich den verbrauchten Kubikzentimetern Ferrolösung. 1 ccm der Farbstofflösung entspricht 0,088 mg Ascorbinsäure.

Zur Ausführung der Titration wird die zu prüfende Lösung, wenn sie stark sauer ist, durch Zusatz von einigen Tropfen gesättigter Natriumacetatlösung auf etwa pH = 5 gebracht. Man arbeitet bei gedämpftem Lichte. Der Umschlag nach Graublau ist in weißen Porzellanschalen am besten sichtbar. Wird auf Rot titriert, so macht man die Substanzlösungen mit Essigsäure bis zu einem pH = 2,5 bis 3 sauer. Salzsäure oder Schwefelsäure sind zu vermeiden.

In stark sauren Lösungen kann man auch mit einer n/100-Jodlösung titrieren, die von Ascorbinsäure sofort entfärbt wird. Dabei entspricht 1 ccm Jodlösung 0,88 mg Ascorbinsäure.

Statt der Titration mit Dichlorphenol-indophenol kann man auch die Entfärbung einer Methylenblau-Lösung durch Ascorbinsäure beim Belichten zur quantitativen Bestimmung von Vitamin C heranziehen[31]). Auch spektroskopisch kann man Vitamin C bestimmen, wenn dabei Oxydationen ausgeschaltet bleiben[28]).

Eine Modifikation der Tillmansschen Methode stellt die Bestimmung mit Hilfe der Vitamin-C-Oxydase dar[32]). Man be-

[31]) E. Martini und A. Bonsignore, Biochem. Ztschr. **273**, 170 (1934).
[32]) H. Tauber und J. S. Kleiner, J. biol. Chem. **110**, 559 (1935); W. Neuweiler, Klin. Wschr. **1936**, I, 856.

stimmt zunächst die gesamte Reduktionskraft des Auszuges mit Dichlorphenol-indophenol, worauf man in einer zweiten Probe das C-Vitamin durch Kürbisoxydase oxydiert und die bleibende unspezifische Reduktion wieder mit Dichlorphenolfarbstoff ermittelt. Die Differenz ergibt den wahren Vitamin-C-Gehalt.

Die Bestimmungsmethoden variieren etwas nach der Art des zu untersuchenden Materials.

Technik der Vitamin-C-Gewinnung. Unter den pflanzlichen Materialien, die zu einer auch im großen Maßstabe geeigneten technischen Darstellung des Vitamins C geeignet sind, kommen in erster Linie Zitronen, Hagebutten, Schwertlilie und dann vor allem grüne Paprikaschoten in Betracht. Die Technik der Vitamingewinnung ist im großen und ganzen einfach, wenn gewisse Vorsichtsmaßregeln beachtet werden. Als solche sind Vermeidung kupferner Gefäße und Leitungen, möglichster Ausschluß von Sauerstoff und Arbeiten im Dunkeln zu erwähnen.

Zur Verbesserung vitaminhaltiger Nahrungsmittel setzt man billig darzustellende, eingedickte Konzentrate des C-Vitamins zu. Die Erfahrung hat gezeigt, daß solche Konzentrate lange haltbar sind. Sie enthalten noch die natürlichen Schutzstoffe der Ascorbinsäure, die sie in ihrem natürlichen Vorkommen begleiten.

Die Darstellung von Vitamin-C-Konzentraten hat in schonender Weise zu erfolgen. Man arbeitet beim Eindicken der Rohsäfte in einem guten Vakuum und vermeidet jede Überhitzung. Temperaturen über 60° sind auf alle Fälle zu vermeiden.

Man stellt her: Eingedickten Saft von Zitronen und Orangen, Tomatenpaste und eingedickten Tannennadelsaft.

1. Konzentrat aus Zitronen und Orangen: Das Verfahren wurde von Zilva[33]) beschrieben und deckt sich mit dem vom DRP. 397 886 geschützten Verfahren. Der Preßsaft von Zitronen oder Orangen wird nach Entfernen der Kerne und der Pülpe mit einem Überschuß von Calciumcarbonat versetzt, gerührt und nach 1stündigem Stehen filtriert. Das Filtrat wird im Vakuum bei höchstens 50° eingedickt. Zu dem Syrup setzt man 7 g reine Zitronensäure zu (pro Liter), was die Haltbarkeit erhöht.

Zu den Konzentraten aus den anderen, oben genannten Materialien, ist nichts zu bemerken. Sie werden nach den bekannten Methoden unter Einhaltung der früher genannten Vorsichtsmaßregeln hergestellt.

---

[33]) Biochemic. J. 21, 1121 (1927).

Darstellung von krystall. Ascorbinsäure: 1. Aus grünen Paprikaschoten[34]): 50 kg Paprika werden gemahlen und mit 1750 ccm heiß gesättigter Bariumacetatlösung versetzt. Man läßt eine Stunde stehen und preßt die Flüssigkeit ab. In den erhaltenen 40 Litern Saft löst man zu 5% normales Bleiacetat und versetzt mit Ammoniak, bis die Lösung gegen Bromphenolblau schwach alkalisch reagiert. Der entstehende Niederschlag wird abzentrifugiert. Es wird in wenig Wasser suspendiert und mit 25proz. Schwefelsäure bis zum Umschlag von Thymolblau versetzt. Der Niederschlag von Bleisulfat wird abfiltriert, im Filtrat Bariumacetat zu 10% gelöst und der entstandene Niederschlag verworfen. Das Filtrat wird mit 5—10% Bleiacetat ausgefällt. Die Lösung wird gegen Bromthymolblau alkalisch gemacht und der Niederschlag abzentrifugiert, worauf dieser wie oben mit Schwefelsäure zerlegt wird.

Das Filtrat (1500—2000 ccm) werden mit Ammoniak abgestumpft (Thymolblau noch nicht gebläut) und im Vakuum bei 20—30° auf 200 bis 300 ccm eingeengt. Man fällt mit dem doppelten Volumen Methylalkohol und verwirft den unwirksamen Niederschlag. Das Filtrat wird mit demselben Volumen Aceton gefällt und der Niederschlag mit wenig Alkohol und Aceton extrahiert. Filtrate und Extrakte werden im Vakuum auf 150 ccm eingeengt und mit 100 ccm Methylalkohol und 500 ccm Aceton versetzt. Man filtriert vom Unlöslichen ab und wäscht mit wenig Methylalkohol aus. Die Waschflüssigkeit wird mit Aceton gefällt. Das Filtrat wird mit der ursprünglichen Lösung vereinigt.

Man versetzt die Filtrate mit demselben Volumen wasserfreiem, frisch destilliertem Äther, dekantiert die überstehende Lösung ab und extrahiert den Niederschlag mit wenig Methylalkohol. Der Extrakt wird mit Äther und Aceton behandelt und das Filtrat mit der Hauptmenge vereinigt. Die Lösungen werden hierauf im Vakuum zur Syrupkonsistenz eingeengt. Der Syrup wird in großen Krystallisierschalen im Exsiccator über Schwefelsäure aufbewahrt. Man stellt granulierte NaOH in denselben Exsiccator. Die ausgeschiedenen Krystalle werden mit Aceton nachgewaschen. Man kann sie aus 3 Teilen Methylalkohol und 2 Teilen Dioxan umkrystallisieren (für jedes Gramm etwa 5 ccm Lösungsmittelgemisch). Ausbeute: 26 g Ascorbinsäure.

Das Franz. Pat. 595 537 und Zusatz-Pat. 26 034 und 27 271 beschreibt ein fast gleiches Verfahren zur Gewinnung von Vitamin C aus Kohl.

---

[34]) J. S. Svirbely und A. Szent-Györgyi, Biochemic. J. **27**, 279 (1933).

2. Aus Hagebutten: Das Russ. Pat. 48318 und ein Verfahren von Tillmans[35]) beschreibt Methoden zur Gewinnung von reiner Ascorbinsäure aus Hagebutten. Das Patent nützt den Umstand, daß sich in den Preßsäften oder wäßrigen Extrakten der Früchte nur wenig störende Begleitstoffe finden, aus und gibt die Vorschrift, die Rohextrakte zu filtrieren, im Vakuum einzudampfen und mit Alkohol zu fällen. Die Ascorbinsäure befindet sich in der alkoholischen Lösung, die nach dem Filtrieren im Vakuum eingedampft wird. Das krystallisierte Vitamin C läßt sich aus dem Syrup leicht gewinnen.

Das Verfahren von Tillmans arbeitet folgendermaßen:

Reife, von Blütenresten befreite Hagebutten werden mit einem Messer halbiert und in einer Flasche mit der dreifachen Gewichtsmenge 0,01-n-Phosphorsäure versetzt. Nach Einleiten von $CO_2$ wird die Flasche mit einem Gäraufsatz versehen und drei Tage stehen gelassen. Die ausgelaugten Früchte werden abgepreßt, der Preßsaft unter Stickstoff auf etwa 30% Trockensubstanz eingeengt und mit der 4—5fachen Menge Aceton gefällt. Man läßt über Nacht stehen, filtriert und engt das Filtrat in derselben Weise ein.

Die Lösung wird mit demselben Volumen 10proz. Bleiacetatlösung versetzt und 30 Minuten gerührt, wobei man zweckmäßig Stickstoff einleitet. Man schleudert den Niederschlag ab, wäscht ihn aus und vereinigt Waschwasser und Filtrat. Man entfernt das Blei mit $H_2S$ und leitet in das vom Bleisulfid befreite Filtrat Kohlensäure ein. Man dampft hierauf im Vakuum zur Trockne ein, nimmt in wenig Wasser auf und trocknet hierauf am siedenden Wasserbad mit gut gereinigtem Sand. Das Trocknen muß unter Stickstoffatmosphäre geschehen. Die trockene Mischung wird mit reinstem Methanol extrahiert, so daß eine etwa 15proz. Lösung entsteht. Zu dieser fügt man unter Stickstoff die 4—5fache Menge Äther, filtriert vom Niederschlag ab und verjagt den Äther im Vakuum. Der trockene Rückstand wird in Wasser zu 6—7% gelöst und mit Liquor plumbi subacet. (DAB. 6) bis zur sauren Lackmusreaktion gefällt. Der Niederschlag wird unter Stickstoff abgeschleudert. Das Filtrat wird mit dem doppelten Volumen reinstem Aceton gefällt, der Niederschlag in Aceton aufgeschwemmt und durch $H_2S$ zerlegt. Das Bleisulfid wird abfiltriert und die Lösung im Vakuum zur Trockne verdampft.

Der Rückstand wird unter Erwärmen in der gerade nötigen Menge Methanol gelöst. Man versetzt hierauf mit so viel peroxydfreiem Äther, daß gerade eine Trübung entsteht, und fällt mit dem dreifachen Volumen niedrig siedendem Petroläther. Das ausgeschiedene Öl krystallisiert über

[35]) Z. Unters. Lebensmittel **65**, 145 (1933).

Nacht. Aus der Mutterlauge kann man durch Wiederholung der Operationen noch etwas Substanz gewinnen. Sie kann durch Umkrystallisieren gereinigt werden. Ausbeute aus 35 kg Hagebutten etwa 6 g reines Vitamin C.

3. Aus Zitronen: King[36]) und Mitarb. haben folgende Methode angegeben:

3 Liter Zitronensaft werden durch Gaze filtriert, mit 7 g basischem Bleicarbonat (kupferfrei!) pro 100 ccm Saft versetzt und 3 Stunden gerührt. Dann gibt man auf 3 Liter etwa 500 ccm einer gesättigten Lösung von neutralem Bleiacetat zu und rührt weitere 30 Minuten. Der Niederschlag wird abzentrifugiert. Das Filtrat wird auf 0° abgekühlt und unter Kohlensäure mit verdünntem Ammoniak (1 : 3) auf pH = 7,6 (Phenolrot) gebracht. Der ausfallende gelbe Niederschlag enthält das gesamte Vitamin C. Man löst ihn in Essigsäure 1 : 3 und fällt wieder mit Ammoniak bei pH = 7,6. Bleiben die Filtrate gelb, so enthielt die Lösung entweder zu wenig Ammoniak oder zu wenig Bleiacetat. Der Niederschlag wird in Salzsäure 1 : 1 gelöst, wobei die Reaktion deutlich kongosauer sein muß. Zur Entfernung öliger Substanzen wird nun mit dem halben Volumen n-Butylalkohol ausgeschüttelt und die wäßrige Schicht mit Alkohol zu einer Konzentration von 75% versetzt. Das gefällte Bleichlorid wird abzentrifugiert und die Flüssigkeit auf 10 ccm eingeengt. Man fügt 100 ccm Aceton zu und zentrifugiert die ausfallenden anorganischen Salze ab. Das Filtrat wird mit Bariumcarbonat neutralisiert. Das Ganze wird nun zur Trockne gebracht. Durch wiederholtes Extrahieren mit n-Propylalkohol und Fällen mit Äther wird das Vitamin schließlich in krystalliner Form erhalten.

4. Andere Ausgangssubstanzen: Baumann[37]) beschreibt ein Verfahren zur Darstellung von Ascorbinsäure aus den Blättern der deutschen Schwertlilie (Iris germanica). Darnach werden die Blätter in einem Tuche gedämpft, abgepreßt und nochmals mit angesäuertem Wasser extrahiert. Die gesammelten Preßsäfte werden im Vakuum eingedampft, mit Methanol gefällt, filtriert und nochmals im Vakuum eingeengt. Man extrahiert hierauf die Fette und Farbstoffe mit Butanol. Die wäßrige Lösung wird mit Bleiacetat in bekannter Weise gefällt, mit Ammoniak behandelt und der Niederschlag mit HCl zerlegt. Die im Vakuum eingedampfte Lösung wird in geschilderter Weise zur Krystallisation gebracht.

---

[36]) J. biol. Chem. **84**, 771 (1929); **97**, 325 (1932).
[37]) J. biol. Chem. **89**, 213 (1930).

Das DRP. 637 258 schildert ein Verfahren zur Vitamin-C-Gewinnung aus den Blättern von Polygonaceen, wie Rhabarber, Rumex acetosella und Polygonum sachalinense. Man erhält aus 100 kg Rhabarberblätter etwa 25 g Ascorbinsäure. Die Methode arbeitet nach dem üblichen Verfahren. Das Amer. Pat. 2 078 237 schildert die Gewinnung von Ascorbinsäure aus Gladiolenblättern. Das Verfahren hat den Nachteil, das der Ascorbinsäuregehalt der Blätter in zerkleinertem Zustande sehr rasch abnimmt, daß also außerordentlich schnell verarbeitet werden muß. Die Ausbeuten sind die gleichen, wie bei der Aufarbeitung der Irisblätter.

Vitamin-C-Gewinnung aus Zitronen, Tomaten, Paprika usw. schildert auch das Ung. Pat. 108 184; die Methode ist von den beschriebenen nicht wesentlich verschieden.

Die synthetischen Methoden sind heute so genau und rationell ausgearbeitet, daß eine Darstellung der Ascorbinsäure aus Naturstoffen selbst nur noch in zweiter Linie in Betracht kommt.

Synthese der l-Ascorbinsäure. Unter den Verfahren, die zur synthetischen Gewinnung der Ascorbinsäure ausgearbeitet wurden, haben jene mit l-Sorbose und l-Xylose als Ausgangsprodukte technische Bedeutung erlangt. Die Ausbeuten sind befriedigend und der Arbeitsgang enthält keine besonderen Schwierigkeiten. Es sollen daher nur diese beiden Verfahren beschrieben werden, wobei die heute üblichen Darstellungsmethoden der l-Sorbose und l-Xylose ausführlich geschildert werden sollen.

1. Gewinnung von l-Sorbose:

A. Aus d-Glucose: Die Reduktion der Glucose zu dem entsprechenden Alkohol Sorbit geschieht nach dem DRP. 544 666 nach dem folgenden Verfahren: 10 Teile Glucose werden in 15 Teilen Wasser und 5 Teilen Methanol gelöst und in Gegenwart von mit Calciumborat aktiviertem Nickelpulver mit Wasserstoff bei 150 Atm. und 130° reduziert. Die Reaktion ist nach etwa $2^1/_2$ Stunden quantitativ beendet. Der Sorbit ist vollkommen rein und erstarrt nach dem Abkühlen zu einer weißen, krystallinen Masse.

Das Franz. Pat. 694 424 arbeitet mit 10 Teilen Glucose in 10 Teilen Wasser und 10 Teilen Methanol, dem 0,5% Calciumhydroxyd zugesetzt sind (pH = 8,1). Es wird mit Wasserstoff bei 80 Atm. und 145—150° mit aktiviertem Nickelpulver (3%) während 2 Stunden reduziert.

Nach Ipatiew werden 10 Teile Glucose in 25 Teilen Wasser und

5 Teilen Alkohol gelöst und mit reduziertem Nickel mit Wasserstoff bei 130—135° während 6—7 Stunden reduziert. Die Ausbeuten sind quantitativ.

Die Oxydation von Sorbit zu l-Sorbose erfolgt mit einer Reinkultur von Bacterium xylinum[38]). Die Sorbitlösung wird geimpft und bei 30° stehen gelassen. Fremdinfektionen werden durch Zusatz von 0,5% Essigsäure vermieden[39]). Etwa gebildete Schimmelrasen werden durch Betupfen mit Essigsäure zerstört. Man erhält 60—65% l-Sorbose, die durch Eindampfen der filtrierten Lösung im Vakuum und Impfen mit einem Krystall l-Sorbose gewonnen wird.

B. Durch Oxydation von „Sionon": Dieses Präparat kommt als Diabetiker-Nährmittel in den Handel (Bayer) und stellt praktisch reinen Sorbit dar. Die Oxydation erfolgt nach dem oben geschilderten Verfahren mit Bact. xylinum.

In der Chem. Ztg. 1940, S. 224 wird ein neues Verfahren zur fermentativen Umwandlung von Sorbit in Sorbose beschrieben. Das Verfahren beruht auf der Verwendung bestimmter Nährböden und Impfkulturen.

2. Diaceton-sorbose:

100 g l-Sorbose werden mit 2 Liter Aceton und 80 ccm konz. Schwefelsäure 20 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Nach 3 Stunden ist der Zucker gelöst; man erhält aber, wenn die Reaktion jetzt unterbrochen wird, zu wenig Diacetonsorbose und zu viel Monoacetonsorbose. Länger als 20 Stunden soll jedoch nicht geschüttelt werden. Die Lösung wird dann unter Kühlung mit 300 g gepulvertem Kaliumcarbonat bis zur neutralen Reaktion energisch geschüttelt. Man filtriert von den Salzen ab und verjagt das Aceton durch Destillation. Der Rückstand wird mit Äther aufgenommen und die Lösung von dem ungelösten Monoacetonderivat abgegossen. Die Ätherlösung wird mehrmals mit 20proz. Pottaschelösung ausgeschüttelt, mit Sulfat getrocknet, durch Destillation vom Äther befreit und im Hochvakuum destilliert. Siedepunkt etwa 135° bei 0,3 mm. Ausbeute 75 g. Das Öl erstarrt schnell zu farblosen Krystallen vom Schmp. 77—78°. Aus den im Destillierkolben verbliebenen Monoacetonsorbit-Rückständen können durch Nachacetonierung mit Aceton und Kupfersulfat weitere 50 g Diacetonverbindung gewonnen werden. Das Verfahren ist durch das Franz. Pat. 780055 geschützt.

Nach dem Schweiz. Pat. 174080 kann man statt Aceton auch

[38]) Bertrand, Ann. chim. (8) 3, 183, 227 (1904).
[39]) H. H. Schlubach und R. Vorwerk, Ber. 66, 1251 (1933).

Cyclohexanon an l-Sorbose anlagern. Zu diesem Zweck läßt man auf 5 Teile Sorbose 40 Teile Cyclohexanon in Gegenwart von 2 Teilen konz. Schwefelsäure einwirken.

3. Diaceton-2-keto-l-gulonsäure:

Das Franz. Pat. 780055 schützt die weitere Darstellung. 100 g Diaceton-l-sorbose werden in eine Lösung von 45 g Kaliumhydroxyd in 1 Liter Wasser eingetragen und unter Rühren möglichst gelöst. Hierauf wird unter ständigem Rühren und Kühlen auf 20° innerhalb einer Stunde eine Lösung von 86 g Kaliumpermanganat in etwa 2 Liter Wasser einlaufen gelassen und weiter bis zur Entfärbung gerührt, was 3—4 Stunden dauert. Zum Schluß wird auf 50° angewärmt. Der Mangandioxydschlamm wird abgesaugt und das Filtrat mit Schwefelsäure auf schwach alkalische (Lackmus) Reaktion gebracht. Jetzt wird im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Äther zur Entfernung der unveränderten Diacetonsorbose extrahiert. Aus dem Äther erhält man 18 g reine Diacetonsorbose. Durch Ausziehen mit heißem absolutem Alkohol erhält man aus dem Ätherunlöslichen die reine, krystallisierte Diaceton-2-keto-l-gulonsäure in Form ihres Kaliumsalzes, das bei 290° schmilzt. Es bildet schöne Nadeln. Ausbeute 110 g = 91%. Die freie Säure gewinnt man, indem man 100 g des K-Salzes in 200 g destilliertem Wasser löst, mit 50 g feinem Eis versetzt und unter starkem Rühren eine Mischung von 50 g konz. Salzsäure, 50 ccm Wasser und 50 g Eis zusetzt. Die freie Säure fällt sofort in schönen Blättchen als Hydrat aus. Sie schmilzt bei 98—99°.

Die Oxydation der Cyclohexanonverbindung erfolgt nach dem Schweiz. Pat. 174080 in der gleichen Weise. Auch die Weiterverarbeitung geschieht analog der Acetonverbindung.

4. 2-Keto-l-gulonsäure:

85 g Diacetonverbindung (Hydrat) werden in etwa der 10fachen Menge destilliertem Wasser gelöst und zum Kochen erhitzt. Man unterbricht die Reaktion nach 40 Minuten. Man dampft hierauf im Vakuum zum dicken Syrup ein, der beim Abkühlen sehr bald krystallinisch erstarrt. Der Krystallbrei wird mit Aceton verrieben, abgesaugt und mit Aceton nachgewaschen. Ausbeute 46,5 g = 82%. Schmp. der Krystalle 171°.

5. l-Ascorbinsäure:

a) In den Mutterlaugen der Darstellung der 2-Ketogulonsäure ist immer etwas fertige Ascorbinsäure enthalten. Dieser Umstand wird nach

dem D. R. P. 641 639 zu einer direkten Darstellung der Ascorbinsäure aus der Diacetonverbindung (Hydrat) benützt.

Man löst Diaceton-2-keto-l-gulonsäure-hydrat in einem Gemisch von 80 Teilen Chloroform und 30 Teilen 80proz. Alkohol, in das 3,3 Teile Salzsäuregas eingeleitet wurden. Man kocht unter Rühren 40—50 Stunden am Rückflußkühler. Die l-Ascorbinsäure scheidet sich krystallin ab. Man erhält eine Ausbeute von 80%.

Das Schwed. Pat. 88 094 arbeitet mit 20proz. Schwefelsäure, in der die Diacetonverbindung gekocht wird. Nach 20 Minuten Kochen erhält man eine 75proz. Ausbeute an l-Ascorbinsäure.

b) Aus der freien 2-Keto-l-gulonsäure wird l-Ascorbinsäure nach verschiedenen Verfahren hergestellt.

10 g Ketogulonsäure werden in 50 ccm mit Kohlensäure gesättigtem Wasser gelöst und 2 Stunden auf 100° erhitzt. Man arbeitet dabei zweckmäßig in Kohlensäure- oder Stickstoffatmosphäre. Nach dem Schweiz. Pat. 187 933 können dabei außer Wasser noch andere Lösungsmittel verwendet werden, z. B. Dioxan, Alkohole, Glykoläther und Glycerinester. Es muß jedoch darauf geachtet werden, daß eine saure Reaktion von pH = 3,4—0,3 vorhanden ist.

Die Lösung in Wasser wird im Vakuum eingedampft und der erhaltene Syrup mit Aceton verrieben. Die Mutterlaugen werden jedesmal eingedampft und mit einem Krystall Ascorbinsäure geimpft.

Nach dem Schweiz. Pat. 188 804 erfolgt die Enolisierung der 2-Ketosäure durch 5stündiges Erwärmen in 3proz. absoluter alkoholischer Salzsäure am Rückflußkühler.

c) Darstellung über den Methyl-ester der 2-Ketosäure: Man löst die Säure in 10 Teilen wasserfreiem Methanol und leitet unter Kühlung auf —10° gasförmiges Diazomethan ein, bis zur Gelbfärbung. Beim Eindampfen im Vakuum hinterbleibt ein rasch krystallisierender Syrup, der mit Aceton verrieben und abgesaugt wird. Schmp. 155—157°. Nach dem Schweiz. Pat. 175 347 kann man auch 1 Teil Ketosäure mit 3 Teilen Methanol, 0,5% trockenem Salzsäuregas und 0,6 Teilen Dimethylsulfat 30 Minuten am Rückflußkühler kochen. Nach dem Eindampfen im Vakuum krystallisiert der Methylester aus.

Die Umlagerung in Ascorbinsäure: 15,3 g reiner Methylester werden in 150 g wasserfreiem Methanol heiß gelöst und in Stickstoffatmosphäre mit einer Lösung von 1,7 g Natrium in etwa 20 g absolutem Methanol unter Umschwenken versetzt. Man kocht eine Minute, kühlt ab und versetzt mit einer Lösung von etwa 2,85 g Salzsäuregas in Methanol. Es wird im Vakuum zur Trockne gebracht und zur Trennung vom Kochsalz

mit heißem absolutem Äthylalkohol ausgezogen. Die Lösung wird im Vakuum zur Trockne gebracht. Aus den Mutterlaugen lassen sich durch Eindampfen weitere Mengen Ascorbinsäure gewinnen.

Nach dem Schweiz. Pat. 180 810 wird mit reinem Calciumcarbonat in einer wäßrigen Lösung des Methylesters bei 80° (2 Stunden) umgelagert. Das Schweiz. Pat. 187 932 verwendet Natriumbicarbonat oder Natriumacetat. Weitere Variationen sind in den Schweiz. Pat. 188 800, 188 802 und 188 803 beschrieben.

Das Engl. Pat. 443 901 beschreibt ein Verfahren, nach welchem sich l-Sorbose durch Oxydation mit 2 Teilen Salpetersäure (d = 1,14) und 2 Teilen Wasser direkt in die 2-Keto-hexonsäure überführen läßt. Man erhitzt 10 Minuten auf dem Wasserbade, kühlt rasch ab, fügt 8 Teile Wasser hinzu und neutralisiert mit Bariumcarbonat. Das Reaktionsprodukt wird mit Alkohol extrahiert und die Lösung im Vakuum eingedickt.. Die Ketohexonsäure kann dann direkt oder über den Methylester in l-Ascorbinsäure überführt werden.

2. Gewinnung von l-Xylose:

a) 1.2.3.4-Di-äthyliden-d-sorbit: 50 g d-Sorbit werden mit 50 ccm Paraldehyd und 17 ccm konz. Salzsäure (d = 1,19) 10 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Man versetzt mit 100 ccm Chloroform, wäscht mit Wasser, verdünnter Natronlauge und nochmals mit Wasser und trocknet mit Calciumchlorid. Hierauf wird unter vermindertem Druck zum Syrup eingedampft. Der Syrup wird hierauf direkt in 300 ccm 50proz. Essigsäure gelöst und die Lösung 50 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt. Man dampft im Vakuum bei 70° ein. Der Rückstand wird in wenig Methanol gelöst, worauf beim Erkalten der 1.2.3.4-Di-äthyliden-sorbit auskrystallisiert. Zugabe von Äther und Petroläther vervollständigen die Ausscheidung. Ausbeute: 17 g.

b) l-Xylose; l-Xylosazon: 4 g der vorstehenden Verbindung und 8,6 g Bleitetraacetat werden mit einem Gemisch von 40 ccm Benzol und 20 ccm Eisessig übergossen. Man läßt eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen, wobei man ab und zu einmal umschüttelt. Wenn vollständige Lösung eingetreten ist, läßt man über Nacht stehen, dampft dann im Vakuum ein und versetzt den Rückstand mit 60 ccm 2-n-Schwefelsäure. Nach $1^1/_2$stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade wird filtriert und zum Filtrat soviel Alkalihydroxyd gegeben, daß die Lösung gegen Lackmus eben noch rot bleibt. Man dampft im Vakuum ein und extrahiert den trockenen Rückstand 3mal mit je 25 ccm Alkohol. Die alkoholischen Extrakte werden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in

45 ccm Wasser gelöst und mit 8 g salzsaurem Phenylhydrazin und 5 g Natriumacetat $2^1/_2$ Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Das ausgeschiedene Öl wird abgesondert und durch Zugabe von etwa 25 ccm Alkohol in Lösung gebracht. Beim Abkühlen krystallisiert das l-Xylosazon aus. Es wird abgesaugt, kurz getrocknet, mit Benzol aufgekocht und aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert.

c) l-Xyloson: 20 g Xylosazon werden in 2 Liter heißem Wasser aufgeschwemmt, mit 400 ccm Alkohol, 32 ccm Benzaldehyd und 20 ccm Eisessig versetzt und unter energischem Rühren $1^1/_2$ Stunden gekocht. Nach dem Erkalten wird fünfmal mit Äther ausgeschüttelt und die wäßrige Lösung im Vakuum auf 1 Liter eingeengt. Nach der Reinigung mit Tierkohle wird im Vakuum zur Trockne gebracht und so rohes Xyloson erhalten.

d) l-Ascorbinsäure: 100 g rohes Xyloson werden in 1500 g 3proz. wäßriger Blausäure gelöst, 10 g starkes Ammoniak zugefügt und nach dem Vertreiben der Luft durch Kohlenmonoxyd 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 600 g 7,5proz. Salzsäure gelöst und unter Kohlensäure 1—2 Tage auf 50° erhitzt. Man verdampft im Vakuum zur Trockne und extrahiert mit starkem Alkohol von den anorganischen Salzen und den unbrauchbaren organischen Stoffen. Durch Zusatz von peroxydfreiem Äther können weitere Verunreinigungen entfernt werden. Man filtriert, engt im Vakuum stark ein und fällt fraktioniert mit alkoholischem Bleiacetat. Die zuerst ausfallenden Verunreinigungen werden verworfen. Die später als Bleisalz ausfallende Ascorbinsäure wird abgetrennt und mit Alkohol gewaschen. Das Bleisalz wird hierauf mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das bleifreie Filtrat eingeengt und die Ascorbinsäure aus Alkohol umkrystallisiert.

Die beschriebenen Verfahren sind durch die DRP. 627 249 und 624 509 geschützt. Denselben Schutz bewirken folgende Patente: Amer. Pat. 2 056 126; Dän. Pat. 50 522; Engl. Pat. 425 198; Franz. Pat. 770 816; Holl. Pat. 36 674; Schweiz. Pat. 169 855, 175 263, 175 264; Ungar. Pat. 111 825; Tschech. Pat. 57 445.

Man kann das l-Xyloson auch direkt aus l-Xylose durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd in Gegenwart von Ferrosulfat gewinnen[40]. Zu diesem Zweck werden 10 g Xylose in 50 ccm Wasser gelöst und 0,5 g Ferrosulfat zugefügt. Man läßt nun langsam 38,6 ccm 6proz. Wasserstoffsuperoxyd zufließen. Die Oxydation verläuft sehr

[40] Morrel und Bellars, J. chem. Soc. London 87, 283 (1905).

rasch. Zur Trennung von unveränderter Xylose wird mit einer alkoholischen Lösung von Bleiacetat gefällt, wobei der Zucker in Lösung bleibt. Das Bleisalz des Xylosons wird mit Schwefelsäure zerlegt und ist zur Weiterverarbeitung rein genug.

l-Xylose kann auch aus Xylan-haltigen Materialien, wie Buchenholz, Sägespänen, Kokosnußschalen usw. erhalten werden. Ein anderer Weg ist die Darstellung aus Zuckersäure. die in das Lacton übergeführt wird, das hier bei der Reduktion l-Gulonsäurelacton gibt. Letzteres kann zu l-Xylose reduziert werden.

Nach dem D R P. 629 723 kann der Methylester der 2-Keto-l-gulonsäure direkt zum Vitaminisieren von Lebensmitteln verwendet werden. Der Ester ist ausgezeichnet haltbar und besitzt dieselbe Vitamin-C-Wirkung wie Ascorbinsäure, in die er im Organismus übergeführt wird. Fettlösliche Verbindungen der Ascorbinsäure erhält man durch Erhitzen von Salzen der Ascorbinsäure mit Fettsäurechloriden (Palmitinsäurechlorid usw.) auf 80—100°. Das Verfahren ist durch das D R P. 639 776 geschützt.

# II. Stickstoffhaltige heterocyclische Verbindungen

## a) Vitamine mit Pyrimidinkern

### 1. Vitamin $B_1$ (Aneurin)

Dieses Vitamin gehört zu der großen Unterabteilung der wasserlöslichen Vitamine, die stickstoffhaltig sind und sich auf Grund ihrer Löslichkeitsverhältnisse von den sog. fettlöslichen Vitaminen A, D, E, K und F unterscheiden.

Die Bezeichnung $B_1$ als Glied einer besonderen Gruppe von B-Vitaminen ist nicht glücklich gewählt, denn die bisher bekannten Vitamine $B_1$ bis $B_7$ stellen nach ihrer chemischen Zusammensetzung und auch nach ihrer physiologischen Wirkung voneinander ganz verschiedene Körper mit eng umrissenem Wirkungskreis dar, die, chemisch gesehen, kaum etwas miteinander zu tun haben. Dennoch spricht ihr fast immer gemeinsames natürliches Vorkommen für eine gewisse Zusammengehörigkeit, für welche allerdings noch die experimentellen Beweise fehlen. Dagegen ist es wahrscheinlich, daß nicht alle Vitamine der Gruppe B einheitliche Substanzen darstellen. Einige von ihnen sind chemisch noch vollständig unerforscht; die Wirkungen einzelner Vitamine B ergänzen sich oft und die B-Avitaminosen sind nicht so scharf zu unterscheiden, daß sie einen

Maßstab für die Einheitlichkeit eines Vitamins geben könnten. Einige der B-Vitamine sind für den Menschen überhaupt entbehrlich, andere wieder sind nur für die Ratte notwendig oder andere nur für Tauben, so daß das Bild noch verwickelter erscheint. Es ist deshalb zu erwähnen, daß gerade die für alle Tiere und den Menschen notwendigen B-Vitamine heute gut erforscht sind, während die spezifisch wirkenden Vitamine B chemisch so gut wie unbekannt sind. Zu den gut erforschten B-Vitaminen gehört vor allem das Vitamin $B_1$ oder Aneurin (Thiamin).

Das Aneurin kann den Ruhm für sich beanspruchen, das erste Vitamin zu sein, dem dieser Name zukam. Mit seiner Entdeckung, eigentlich mit der Entdeckung seiner Wirksamkeit, die gleichzeitig die Entdeckung der experimentellen Beriberi war, eröffnete im Jahre 1896 der holländische Arzt Chr. Eijkmann den Reigen der Vitaminforschung. Schon ein Jahr später konnte Eijkmann nachweisen, daß das gegen die Beriberi wirksame Prinzip in der Reiskleie enthalten ist und 1911 stellte der Biochemiker Funk die ersten wirksamen Extrakte aus Reiskleie her. Zum erstenmal stellten dann Jansen und Donath im Jahre 1926 das krystallisierte Vitamin dar, dem sie die Formel $C_6H_{10}ON_2$ gaben. Windaus konnte 1932 zeigen, daß diese Formel falsch ist und daß das Molekül des Vitamins $B_1$ außer Stickstoff auch Schwefel enthält. Die richtige Formel für das Vitamin gab Windaus mit $C_{12}H_{16}ON_4S$ an. Gleichzeitig mit Windaus begann R. R. Williams über die Konstitutionsaufklärung zu arbeiten und diese Arbeiten konnten von beiden Forschern im Jahre 1935 mit der Aufstellung der Konstitutionsformel für das Vitamin $B_1$ abgeschlossen werden. Andersag und Westphal sowie Williams konnten 1936 die erste Synthese des Aneurins erzielen, der bald eine weitere von Todd folgte.

Vorkommen: Vitamin $B_1$ gehört mit zu den verbreitetsten Stoffen, kommt allerdings meistens nur in sehr geringen Mengen in tierischen, in größeren Konzentrationen in pflanzlichen Materialien vor. Es ist fast immer von den anderen Vitaminen der Gruppe B begleitet. Reich an Vitamin $B_1$ sind Weizen-, Roggen- und Gerstenkeimlinge, Hefe, Reishüllen und Leber. Eigelb und grünes Gemüse enthalten gleichfalls größere Mengen. Aus einer Tonne Reis werden 5 g reines Vitamin erhalten, was einer Ausbeute von rund 25% entspricht. Fleisch, Milch, Fisch, Kartoffeln enthalten etwas Vitamin. Eiklar und das Endosperm der Getreidekörner sind frei von Vitamin $B_1$. Tabelle 20 gibt eine Übersicht des Vitamin-$B_1$-Gehaltes der wichtigsten Nahrungsmittel.

Der Vitamin-$B_1$-Gehalt der Kuhmilch ist nicht abhängig von der zugeführten Nahrung, weil das Vitamin im Pansen durch Bakterien syn-

Tabelle 20

| Vorkommen | Internat. Einheiten/g |
|---|---|
| Getrocknete Bierhefe | 80 |
| „ Brennereihefe | 25 |
| „ Holzzuckerhefe | 10 |
| Hefe-Extrakte | 100 |
| Weizenkeime | 6 |
| Weizenkorn | 1,5 |
| Weizenmehl (0-94 %) | 1,2 |
| „ (0-75 %) | 0,4 |
| „ (0-60 %) | 0,2 |
| Roggenkeime | 3 |
| Roggenkorn | 1 |
| Weizenkleie | 1,6 |
| Hafermehl | 3 |
| Gerstenkeimlinge | 12 |
| Maiskeimlinge | 4 |
| Reiskleie | 6 |
| Buchweizen | 4 |
| Reiskeime | 12 |
| Nüsse | 1 |
| Erbsen | 1 |
| Linsen | 1,6 |
| Bohnen | 0,5 |
| Kartoffeln | 0,5 |
| Tomaten | 0,4 |
| Grüne Gemüse | 0,5—1,0 |
| Früchte | 0,4—0,5 |
| Eigelb | 1,4 |
| Kuhmilch | 0,3 |
| Frauenmilch | 0,1 |
| Fleisch | 0,5—3,0 |
| Fisch | 0,3—0,6 |
| Rindsleber | 3 |
| Gehirn | 1,2—5,0 |

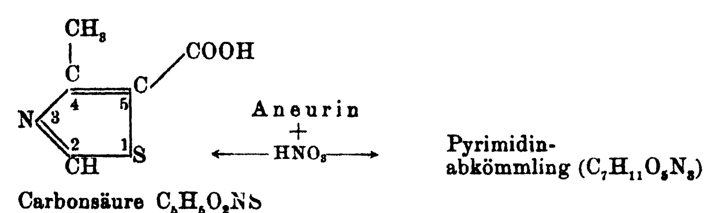
thetisiert wird. Dagegen fehlt in der Frauenmilch oft genug jede Spur des Vitamins, was für die Vitaminversorgung des Säuglings von großer Wichtigkeit ist. Die Frage, ob das Vitamin von der Hefe synthetisiert werden kann, ist von Scheunert und Schieblich[1]) positiv beantwortet worden.

Konstitution: Die Aufklärung der Konstitution des Vitamins $B_1$ ist das Verdienst Windaus und seiner Mitarbeiter einerseits und von Williams und seiner Schule andererseits. Die Arbeiten begannen 1934 und waren 1935 im wesentlichen mit der Aufstellung einer Konstitutionsformel für das Vitamin $B_1$ abgeschlossen. Die Formel konnte durch die Synthese bewiesen werden.

[1]) A. Scheunert und M. Schieblich, Tierernährung 9, 173 (1937).

Vitamin $B_1$ $(C_{12}H_{18}ON_4SCl_2)$
Chlorhydrat

W i n d a u s[2]) erhielt durch Spaltung des Vitamins mit S a l p e t e r - s ä u r e zwei krystalline Abbauprodukte: Das eine ist eine C a r b o n - s ä u r e $C_5H_5O_2NS$, das andere ein P y r i m i d i n a b k ö m m l i n g komplizierter Art von der Zusammensetzung $C_7H_{11}O_5N_3$, der als Äthylester erkannt wurde. Die Äthoxylgruppe ist erst bei der Aufarbeitung der Reaktionsprodukte eingeführt worden und im ursprünglichen Vitamin nicht vorhanden.




R. R. W i l l i a m s[3]) konnte durch Spaltung mit N a t r i u m - s u l f i t zwei Spaltstücke isolieren, von denen eines eine A m i n o - p y r i - m i d i n - s u l f o n s ä u r e, 2-Methyl-4-amino-5-sulfomethyl-pyrimidin, ist, das durch Reduktion mit Natrium unter Eliminierung der Sulfogruppe in ein Amino-pyrimidin, 2 , 5 - D i m e t h y l - 4 - a m i n o - p y r i - m i d i n , umgewandelt wird.

+ Na

Das s c h w e f e l h a l t i g e  S p a l t s t ü c k $C_6H_9ONS$ wurde auf Grund seiner chemischen und optischen Eigenschaften als T h i a z o l -

[2]) A. W i n d a u s , R. T s c h e s c h e und R. G r e w e, Z. physiol. Chem. **228**, 27 (1934).

[3]) R. R. W i l l i a m s und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **56**, 1187 (1934); **57**, 229, 517, 536, 1093, 1856 (1935); **58**, 1504 (1936); **59**, 530, 1052 (1937).

derivat[4]) identifiziert: 4-Methyl-5-oxyäthyl-thiazol. Es geht bei der Oxydation mit Salpetersäure in die von Windaus erhaltene Carbonsäure $C_5H_5O_2NS$ über.

4-Methyl-5-oxäthyl-thiazol $\xrightarrow{+HNO_3}$ 4-Methylthiazol-5-carbonsäure

Die Spaltung des Aneurins nach Williams geht bei schwach saurer Reaktion (pH = 4,8—5) bereits bei Zimmertemperatur vor sich. Die Spaltung verläuft unter günstigen Bedingungen quantitativ nach der Gleichung:

$$C_{12}H_{18}ON_4SCl_2 + Na_2SO_3 = C_6H_9O_3N_3S + C_6H_9ONS + 2\ NaCl.$$

Die Art der Verknüpfung der beiden Ringsysteme ergab sich aus verschiedenen Überlegungen. Die Bildung unversehrter Ringe bei der Spaltung gestattete die Folgerung, daß diese nicht unmittelbar zusammenhängen. Die Spaltung des Aneurins mit flüssigem Ammoniak ergab schließlich ein Diamino-pyrimidin, dessen neu eingetretene Aminogruppe nicht im Kern, sondern an einer Alkylgruppe sitzt[5]). Die gleiche Base wurde von Windaus und Grewe[6]) auch durch Oxydation mit Permanganat erhalten. Dieser Körper läßt sich leicht in die Sulfosäure $C_6H_9O_3N_3S$ von Williams überführen. Damit ist die Verknüpfungsstelle der beiden Ringsysteme bewiesen.

Aneurin + $KMnO_4$ oder $NH_3$ → 2-Methyl-4-amino-5-amino-methyl-pyrimidin $\xrightarrow{Na_2SO_3}$ Sulfosäure $C_6H_9O_3N_3S$

[4]) A. E. Ruehle, A. T. Clarke und S. Gurin, J. amer. chem. Soc. **57**, 1876, 1887 (1935).

[5]) R. R. Williams, J. amer. chem. Soc. **58**, 1063 (1936).

[6]) A. Windaus, R. Tschesche und R. Grewe, Z. physiol. Chem. **237**, 98 (1935); A. R. Todd, F. Bergel und Karimullah, Ber. **68**, 2257 (1935); **69**, 217 (1936).

Bei der Sulfitspaltung wird die Thiazolbase freigemacht und die wasserunlösliche Pyrimidinsulfonsäure entsteht. Die Erklärung für dieses Verhalten gibt die Tatsache, daß das Vitamin $B_1$ nach Art eines quartären Thiazoliumsalzes gebaut ist, wie sich aus der Titrationskurve des Hydrochlorids ergibt[7]).

Die Titrationskurve zeigt, daß nach Verbrauch von 1 Äquiv. Lauge zwar ein Potentialsprung vorhanden ist, daß aber der beim 2. Äquiv. erwartete ausbleibt. Erst bei 3 Mol. Lauge steigt das pH wieder rasch an. Dieses unerwartete Verhalten ist für Thiazoliumverbindungen charakteristisch. Im Gegensatze dazu verhalten sich die Salze tertiärer Thiazole wie die Salze schwacher Basen. Der fehlende Sprung bei 2 Äquivalenten Lauge weist darauf hin, daß eine chemische Veränderung im Thiazolring stattfindet.

Die Vorgänge sind folgendermaßen zu erklären: Mit 1 Mol. Lauge wird zunächst die Gesamtmenge des Dichlorids in das Monochlorid verwandelt.

Cl $CH_3$ $CH_2-CH_2OH$ — N C—$CH_2$—N S — $H_3C$ N C $NH_2$ . HCl
$\xrightleftharpoons[\text{1 HCl}]{\text{1 NaOH}}$
Cl $CH_3$ $CH_2-CH_2OH$ — N C—$CH_2$—N S — $H_3C$ N C $NH_2$

Beim weiteren Zufügen von Lauge bildet sich das N-Thiazoliumhydroxyd, das sich aber gleichzeitig in die Pseudobase verwandelt.

$\xrightleftharpoons[\text{1 HCl}]{\text{1 NaOH}}$
$CH_3$ $CH_2-CH_2OH$ — OH C C — CH — N C—$CH_2$—N CH S — $H_3C$ C N C $NH_2$

$\xrightleftharpoons{\text{Umlagerung}}$
$CH_3$ $CH_2-CH_2OH$ — C C — N C—$CH_2$—N CH S — $H_3C$ N $NH_2$ OH

7) R. R. Williams und A. E. Ruehle, J. amer. chem. Soc. 57, 1856 (1935).

Dieses Carbinol verbraucht nun seinerseits wieder Lauge, wobei der Thiazolring geöffnet wird.

```
                                              CH3   CH2-CH2OH
                          CH                   |     |
                        /    \\              C=====C
 1 NaOH            N          C—CH2—N/            |
 ———————→          ||         |      |           S.Na
 ←———————          C          C     HC=O
 1 HCl           /   \\     //  \
             H3C         N         NH2
```

Diese Vorgänge, die Bildung der echten Base, des Carbinols und der Ringöffnung, verlaufen nebeneinander, weshalb bei 2 Mol. Lauge kein pH-Sprung zu beobachten ist. Die Vorgänge sind vollständig reversibel.

Thiochrom: Kuhn[8]) und Mitarb. isolierten 1936 aus Hefe einen gelben Farbstoff, dessen Krystalle sich als schwefelhaltig erwiesen. Dieser Farbstoff, dessen Bruttoformel $C_{12}H_{14}ON_4S$ der des Vitamins $B_1$ sehr ähnlich ist, zeigt in Lösung eine intensive blaue Fluoreszenz. Die Autoren gaben dem Körper den Namen Thiochrom. Man vermutete enge Beziehungen des Thiochroms mit dem Vitamin $B_1$, zumal schon R. A. Peters[9]) durch Oxydation von Vitamin $B_1$ fluoreszierende Körper erhalten hatte. Auch bei der thermischen Zersetzung treten fluoreszierende Produkte auf. Barger, Bergel und Todd[10]) konnten Vitamin $B_1$ durch Oxydation in alkalischer Lösung mit Kaliumferricyanid in Thiochrom überführen.

Die von Barger[11]) und Mitarb. sowie von Grewe[12]) aufgestellte Konstitutionsformel konnte durch Synthese[13]) bewiesen werden.

```
            CH       CH2        CH3
          /    \\   /    \       |
        N        C         N————C
        ||       |         |    ||
        C        C         C    C
      /   \\   //  \\   //  \  /  \
  H3C        N        N       S     CH2
                                     |
                                    CH2OH
```

[8]) R. Kuhn, Th. Wagner-Jauregg, F. W. van Klaveren und H. Vetter, Z. physiol. Chem. **234**, 196 (1936).

[9]) Nature **135**, 107 (1935); H. W. Kinnersley, I. R. O'Brien und R. A. Peters, Biochemic. J. **29**, 2369 (1935).

[10]) G. Barger, F. Bergel und A. R. Todd, Nature **136**, 259 (1935).

[11]) G. Barger, F. Bergel und A. R. Todd, Ber. **68**, 2257 (1935).

[12]) R. Grewe, Z. physiol. Chem. **242**, 89 (1936); Naturwiss. **24**, 657 (1936).

[13]) F. Bergel und Mitarb., J. chem. Soc. London **1936**, 1601; **1938**, 26.

Das *Thiochrom* bildet gelbe Krystalle vom Schmp. 227—228°. Die Umwandlung des Vitamin $B_1$ in Thiochrom und die Messung der Fluoreszenzintensität dient als Bestimmungsmethode des Vitamins.

Die *nur in alkalischer Lösung* mögliche Oxydation des Vitamin $B_1$ zum Thiochrom verläuft über das oben erwähnte Carbinol, das zum *Keton* oxydiert wird und mit der Aminogruppe den Ring schließt.

Aneurin + NaOH + $[Fe(CN)_6]K_3$ ⟶

$CH_3$ $CH_2-CH_2OH$
CH C C
N C—$CH_2$—N
O=C S
C C
$H_3C$ N $NH_2$
Keton

⟶ Thiochrom
$-H_2O$

*Eigenschaften*: Vitamin $B_1$ ist eine gut krystallisierende Substanz vom Schmelzpunkt 221°. Die Krystalle sind monoklin. Das freie Vitamin ist eine zweisäurige Base, da außer dem quaternären Stickstoffatom noch die Aminogruppe zur Salzbildung befähigt ist. Die mineralsauren Salze des Vitamins reagieren in Wasser nur schwach sauer. Es sind folgende Salze des Vitamins bekannt:

*Chlorhydrat*: Schmp. 249—250°;
*Bromhydrat*: Schmp. 227—231°;
*Chloraurat*: Schmp. 198°;
*Rufianat*: Schmp. 291°;
*Pikrolonat*: Schmp. 229°;
*Sulfat*: Schmp. 203°;
*Tetrasulfat*: Schmp. 276°;
*Nitrat*: Schmp. 164°.

Das Chlorhydrat krystallisiert in farblosen Nadeln. Aus Methylalkohol oder Wasser unter Zusatz von Alkohol krystallisiert, zeigt es den obigen Schmelzpunkt, während es aus Methylalkohol unter Zusatz von Äther bei 232—234° schmilzt.

Das Vitamin $B_1$ besitzt ein charakteristisches *Absorptionsspektrum*[14]), dessen Banden in Lage und Höhe stark vom Lösungs-

[14]) R. A. *Peters* und J. St. L. *Philpot*, Proc. Roy. Soc. London (B), **113**, 48 (1933); A. *Windaus* und Mitarb. Z. physiol. Chem. **204**, 123 (1932); A. *Smakula*, Z. physiol. Chem. **230**, 231 (1935); O. *Wintersteiner*, R. R. *Williams* und A. E. *Ruehle*, J. amer. chem. Soc. **57**, 517 (1935).

mittel abhängig sind. Zur Bestimmung des Vitamins sind sie daher nur schwer verwendbar. Die beiden Absorptionsmaxima liegen nach Windaus und Smakula[14]) für das Dichlorhydrat in Wasser bei 245 bzw. 260 mμ, nach Wintersteiner und Mitarb.[14]) bei 234 bzw. 268 mμ. Der molek. Extinktionskoeffizient: $K_{260}$ mμ = 8225.

Isoelektrischer Punkt: pH = 9,2. Bestrahlung mit ultraviolettem Licht der Wellenlänge 256 mμ vernichtet die Wirksamkeit.

Das freie Vitamin wird in neutraler Lösung beim Kochen rasch zerstört. Die Zerstörung verläuft sehr rasch in alkalischen Medien und bei Luftzutritt. Das pH-Optimum der Beständigkeit liegt bei 3,5, wo das Vitamin sogar Erhitzen auf 120° verträgt. Starke Mineralsäuren spalten Ammoniak ab und bilden inaktive Umwandlungsprodukte. Oxydationsmittel greifen das Vitamin stark an und zerstören es. In alkalischem Medium wird es zu Thiochrom umgewandelt.

Das Vitamin ist adsorbierbar an Fullererde und Kohle. Es ist quantitativ fällbar durch Phosphorwolframsäure bei pH = 4,5—5,5. Außerdem gibt es Niederschläge mit Sublimat in Gegenwart von Natriumacetat, mit Silbernitrat in Gegenwart von Baryt, mit Pikrolonsäure, Rufiansäure, Reineckesäure, Goldchlorid, Platinchlorid in alkoholischer Lösung. Nicht gefällt wird es durch Quecksilbersulfat in saurer Lösung, durch Bleiessig, Tannin, Pikrinsäure und Flaviansäure. Mit Barytwasser entwickelt das Vitamin Ammoniak und Schwefelwasserstoff. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid in Sodalösung wird es nicht verändert. Durch Acetonfällung wird das Vitamin teilweise zerstört. Mit konz. Salzsäure bei 150° behandelt, entsteht Chloro-oxyvitamin, das nicht mehr aktiv ist und zwei Absorptionsmaxima bei 267 und 220 mμ aufweist[15]). Formaldehyd zerstört das Vitamin ebenfalls.

Das Vitamin läßt sich mit Platinmohr und Wasserstoff partiell hydrieren, wobei 2 H-Atome aufgenommen werden und ein Äquivalent Säure frei wird[16]).

Synthetische Verbindungen, die beide heterocyclische Ringe unmittelbar verknüpft enthalten, sind dargestellt worden, sind jedoch physiologisch unwirksam. Die 2-Stellung der Methylgruppe im Pyrimidinring ist nicht unbedingt erforderlich; auch bei einer 6-Stellung der $CH_3$-Gruppe ist noch Vitaminwirkung vorhanden.

Farbreaktionen: Beim Erwärmen des Vitamins mit Zink-

[15]) E. R. Buchman und R. R. Williams, J. amer. chem. Soc. **57**, 1751 (1935).

[16]) F. Lippmann, Nature **138**, 1097 (1936).

staub erhält man eine starke Fichtenspanreaktion. Eine Anzahl von Farbreaktionen des Aneurins können in gewissen Grenzen als Nachweisreaktionen von Nutzen sein, sie sind aber nicht spezifisch für das Vitamin $B_1$. So gibt Aneurin mit Diazobenzol-sulfonsäure und Formaldehyd eine gelbrote Färbung. Die Reaktion wird nach Kinnersley und Peters[17]) folgendermaßen ausgeführt:

Man fügt zu 0,5 ccm diazotierter Sulfanilsäure 1,25 g einer Lösung von 100 ccm n-NaOH, 100 ccm Wasser, und 5,76 g Natriumbicarbonat und fügt nach einer Minute 0,03 ccm Formaldehyd (40%) zu. Darauf gibt man sofort 0,1 bis 0,3 ccm der Vitaminlösung, die 10—20 $\gamma$ Vitamin in 30proz. Alkohol enthält, zu, deren pH über 4 liegen soll. Es entsteht sofort die charakteristische rotgelbe Farbe, deren Intensität nach 30 bis 60 Minuten ihr Maximum erreicht hat.

Eine ähnliche Reaktion haben Prebluda und McCollum[18]) ausgearbeitet: p-Aminoacetanilid oder p-Aminoacetophenon geben nach der Diazotierung mit dem Vitamin $B_1$ eine in Wasser unlösliche purpurrote Verbindung, die zur Bestimmung und Isolierung des Vitamins empfohlen wird.

Die beste chemische Bestimmungsmethode*) für das Vitamin $B_1$ ist die Oxydation zu Thiochrom mit Kaliumferricyanid in alkalischer Lösung, Ausschütteln mit Butylalkohol und Messung der Fluoreszenzintensität[19]).

Physiologische Wirkung: Die bekannteste Vitamin-$B_1$-Mangelkrankheit ist die in Ostasien früher sehr häufige Beriberi. Sie tritt auf, wenn bei verhältnismäßig großer Kohlenhydratzufuhr die nötigen Mengen an Vitamin $B_1$ fehlen. Dies ist bei den Reis essenden Völkern der Fall, da bei diesen der geschälte Reis das Hauptnahrungsmittel ist. Nachdem sich aber das Vitamin gerade in den Reisschalen findet, ist die Nahrung recht arm an dem lebenswichtigen Vitamin $B_1$. Das Krankheitsbild wird als das einer Polyneuritis bezeichnet. Es treten Muskelschwäche, Gliederschmerzen und Untertemperaturen auf, die bei Magendarmstörungen und Appetitmangel zu Wachstumsstillstand und Gewichtsabnahme führen. Muskel- und Nervenfasern zeigen sich degeneriert. Wasseransammlungen von Ödemcharakter und Ergüsse leiten den Tod ein. Die Beriberi ist nicht allein auf das Fehlen von $B_1$

[17]) A. W. Kinnersley und R. A. Peters, Biochemic. J. **28**, 667 (1934).

[18]) H. J. Prebluda und E. McCollum, Science **84**, 488 (1936).

*) Siehe F. Gstirner, l. c.

[19]) J. Goudsmit und H. G. K. Westerbrink, Nature **139**, 1108 (1936); W. Karrer und U. Kubli, Helv. chim. acta **20**, 667 (1937).

zurückzuführen, es wirkt sich ebenfalls das Fehlen der das Vitamin $B_1$ stets begleitenden anderen Vitamine der B-Gruppe aus.

Der menschlichen Beriberi nahe verwandt und in den Krankheitsbildern ähnlich ist die Ratten- und Geflügelberiberi. Letztere war ja die Ursache für die Entdeckung des Vitamins $B_1$ und damit der Vitamine überhaupt.

Zwischen dem Vitamin $B_1$ und dem Kohlenhydratstoffwechsel bestehen enge Beziehungen; die Symptome der Taubenberiberi werden durch eine fettarme und kohlenhydratreiche Kost ungünstig beeinflußt. Es ist erwiesen, daß mit dem Kohlenhydratgehalt der Nahrung auch der Bedarf des Organismus an Vitamin $B_1$ steigt. Zunahme des Leberglykogens und eine unvollkommene Verbrennung der Milchsäure, die sich durch Auftreten von Brenztraubensäure im Gehirn äußert, sind die Symptome für $B_1$-Mangel.

Der Vitamin-$B_1$-Bedarf ist bei jungen Tieren größer, als bei erwachsenen. Das Vitamin ist fast für alle Tiere, Vögel, Fische und Amphibien, aber auch für Insekten unentbehrlich. Der Vitamin-$B_1$-Bedarf Erwachsener ist dem Stoffwechsel der Gewebsmasse proportional. Wiederkäuer wie Rind, Ziege und Schaf, können das Vitamin im Pansen synthetisieren und sind deshalb nicht unbedingt auf eine Zufuhr durch die Nahrung angewiesen. Tauben und Ratten haben ungefähr denselben Bedarf. Dies ist für die Testmethoden wichtig.

Der bekannteste Test ist der sog. „Kurative Taubentest". Die Tauben werden mit gewaschenem und im Autoklaven behandeltem Reis gefüttert, bis sie an manifester Polyneuritis erkrankt sind. Sie erhalten dann eine einmalige Gabe der auf Vitamin-$B_1$-Wirkung zu untersuchenden Substanz. Das Gewicht dieser Dosis dividiert durch die Anzahl der Tage bis zum Wiederauftreten der Krämpfe ergibt die Tauben-Tagesdosis des untersuchten Präparates.

Diese Dosis beträgt beim reinen Vitamin-$B_1$-Hydrochlorid 2 $\gamma$. Als Standard gilt ein Fullererdeadsorbat aus Reisschalen. 10 mg dieses Adsorbats gelten als 1 Internationale Einheit. Das Adsorbat wird wie folgt hergestellt:

100 kg Reisschalen werden mit Wasser extrahiert, der Extrakt mit Schwefelsäure auf $p_H = 4{,}5$ gebracht, mit Salicylsäure zu 0,2% und Toluol versetzt, nach 2 Tagen filtriert und mit 3 kg Fullererde 1 Tag geschüttelt. Die Fullererde wird abfiltriert, mit Wasser und Alkohol gewaschen und getrocknet.

Aus dem Adsorbat konnten 4—5 $\gamma$ krystallisiertes Aneurinhydrochlorid isoliert werden. Die Unterschiede der Resultate bei den verschie-

denen Tierarten ergeben verschiedene Testmethoden und führen zu einer Anzahl von Testen. So entspricht 1 Taubentagesdosis 2—3 I.E., 1 Rattentagesdosis 2 I.E.; bei Verwendung von reinem Vitamin $B_1$ werden gebraucht für:

| | |
|---|---|
| 1 Taubentagesdosis | 2 γ |
| 1 Rattentagesdosis | 2 γ |
| 1 Prophylaktische Taubendosis | 4 γ |
| 1 Rattenwachstumseinheit (1 Shermaneinheit) | 4 γ |

Der Mensch benötigt etwa 400 γ im Tag. Der Bedarf steigt mit der Kalorienzufuhr. Besonders große Mengen braucht der Säugling, sowie das wachsende Kind. Während ausgesprochene Vitamin-$B_1$-Mangelkrankheiten bei uns selten sind, treten Hypovitaminosen durch Zufuhr ungenügender Mengen des Vitamins immer noch häufig auf.

## Vitamin-$B_1$-pyrophosphorsäure (Cocarboxylase)

Peters und Thomson[20]) teilten 1934 mit, daß Brenztraubensäure, die im $B_1$-avitaminotischen Taubengehirn während der Atmung in Lactatlösung in vitro gebildet wird, nach Zusatz von Vitamin $B_1$, in Gegenwart von Pyrophosphat weitgehend verschwindet. Die Autoren schlossen daraus, daß das Vitamin $B_1$ das Coenzym einer fermentativen Umwandlung der Brenztraubensäure sein müsse.

Die Decarboxylierung der Brenztraubensäure in der Hefe zu Acetaldehyd und Kohlensäure erfolgt durch ein Ferment, die Carboxylase, die sich in ein Apoferment und ein Coferment, die Cocarboxylase, aufteilen läßt. Das Apoferment ist ein noch unbekanntes Protein. Die Cocarboxylase wurde erstmalig von Lohmann und Schuster[21]) aus Hefe dargestellt.

In ihrem chemischen Verhalten stimmt sie weitgehend mit dem Vitamin $B_1$ überein. Bei der Sulfitspaltung ergibt sie das 2-Methyl-4-amino-5-sulfo-methyl-pyrimidin und außerdem das 4-Methyl-5-oxäthyl-thiazol in Form des Pyrophosphats. Sie ist eine dreibasische Säure mit einer stark und zwei schwach sauren Gruppen. In alkalischer Lösung kann sie zu einem blaufluoreszierenden Thiochrom-pyro(di)phosphat oxydiert werden.

Die Cocarboxylase ist demnach der Pyrophosphorsäureester des Vitamins $B_1$ und besitzt die Bruttoformel $C_{12}H_{19}O_7N_4SP_2Cl$. Die Konstitution ist folgende:

[20]) R. A. Peters und R. H. S. Thomson, Journ. Physiol. **81**, 22 P (1934); T. W. Birch und P. J. G. Mann, Biochemic. J. **28**, 602, 622 (1934).

Das Absorptionsspektrum der Aneurin-diphosphorsäure ist sehr ähnlich dem des Aneurins und zeigt zwei Maxima bei 245 und 260 m$\mu$. Die Intensität beträgt $K_{245} = 31{,}3 \cdot 10^3$ und $K_{260} = 33{,}3 \cdot 10^3$.

Die Cocarboxylase konnte von Lohmann und Schuster[21]) auf enzymatischem Wege aus Aneurin und Phosphat synthetisiert werden.

Im Taubenversuch ist das Coferment als Vitamin etwa doppelt so wirksam wie das reine Vitamin $B_1$. Der synthetisch erhaltene Monophosphorsäure-ester des Vitamins $B_1$ ist zwar als Vitamin, nicht aber als Coferment wirksam.

Es ist noch nicht ganz klar, ob nur die Cocarboxylase physiologisch wirksam ist oder ob auch das Vitamin selbst biologische Funktionen besitzt. Auf jeden Fall kann man das Vitamin $B_1$ als Wirkgruppe (prosthetische Gruppe) eines Cofermentes und damit als Vorstufe eines Fermentes bezeichnen. Nach den Modellversuchen von W. Langenbeck[22]) ist die Carboxylase-Wirkung des Aneurins eine echte Zwischenproduktskatalyse, indem die Aminogruppe eine Ketiminobrenztraubensäure bildet, die in Kohlensäure und ein Säurederivat des Acetaldehyds zerfällt, das sich dann von neuem mit Brenztraubensäure unter Freiwerden von Acetaldehyd umsetzt.

Zum Nachweis der Cocarboxylase dient die Umwandlung in Diphospho-thiochrom, das infolge der Phosphorsäure wasserlöslich ist. Man kann demnach das Vitamin $B_1$ und seinen Diphosphorsäureester in einem Arbeitsgang bestimmen, indem man in alkalischer Lösung oxydiert, das Thiochrom mit Butylalkohol ausschüttelt und in beiden Phasen die Fluoreszenz bestimmt[23]). Man kann die Cocarboxylase auch fermentchemisch durch Messung des entwickelten $CO_2$ im Gärversuch bestimmen[24]).

---

[21]) K. Lohmann und Ph. Schuster, Biochem. Z. **294**, 183 (1937).

[22]) W. Langenbeck, Fermentmodelle, Berlin **1936**.

[23]) H. Roth, Biochem. Z. **297**, 52 (1938).

[24]) J. S. Schultz und Mitarb., J. amer. chem. Soc. **59**, 948 (1937).

$$\text{Cocarbox.} - NH_2 + OC\begin{cases} COOH \\ CH_3 \end{cases} \longrightarrow \text{Cocarbox.} - N = C\begin{cases} COOH \\ CH_3 \end{cases}$$

$$\text{Cocarbox.} - N = \underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}} + CO_2 \text{ (Kohlensäure)}$$

$$\longrightarrow + \overset{\displaystyle COOH}{\overset{|}{\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C{=}O}}}}$$

$$\downarrow$$

$$\text{Cocarbox.} - N = C\begin{cases} COOH \\ CH_3 \end{cases} \quad + CH_3 . CHO \text{ (Acetaldehyd)}$$

Synthese des Aneurins

Vitamin $B_1$ kann nach verschiedenen Verfahren synthetisiert werden. Die Hauptaufgabe bei der Synthese besteht in der Darstellung der beiden Ringsysteme 2-Methyl-4-amino-5-halogen-methyl-pyrimidin und 4-Methyl-5-oxäthyl-thiazol. Die Thiazole verbinden sich leicht mit Halogenalkylen unter Bildung von N-Alkyl-thiazolonium-halogeniden.

Bei den bekannten drei Synthesen des Vitamins $B_1$ sind die ersten vier Stufen durchaus gleichartig und die so erhaltenen Zwischenstufen unterscheiden sich nur durch die am Pyrimidinkern in 5-Stellung sitzende Seitenkette, die die Brücke zum Thiazolkern bilden soll.

1. Die Pyrimidin-Komponente: A. Nach Andersag und Westphal[25]) wird Acetamidin mit Formylbernsteinsäureester zu einem Pyrimidylessigester kondensiert, der dann in das 2-Methyl-4-amino-5-brom-methyl-pyrimidin umgewandelt wird.

$$H_3C - C\begin{cases} {=}NH \\ -N\begin{cases} H \\ H \end{cases} \end{cases} + \begin{matrix} HOHC{=}C-CH_2-COOC_2H_5 \\ | \\ H_5C_2O-C{=}O \end{matrix}$$

$$\longrightarrow \text{Pyrimidinring: } N, CH, C-CH_2 . COOC_2H_5, C-OH, N, C-CH_3 \xrightarrow{POCl_3} \text{Pyrimidinring: } N, CH, C-CH_2-COOC_2H_5, C-Cl, N, C-CH_3$$

[25]) H. Andersag und K. Westphal, Ber. 70, 2035 (1937).

$$\xrightarrow{\text{flüss. } NH_3} \text{2-Methyl-4-amino-pyrimidin-5-}CH_2{-}CO\cdot NH_2 \xrightarrow{Br_2,\ NaOH} \text{2-Methyl-4-amino-pyrimidin-5-}CH_2\cdot NH_2$$

$$\xrightarrow{HNO_2} \text{2-Methyl-4-amino-pyrimidin-5-}CH_2\cdot OH \xrightarrow[+\text{Eisessig}]{HBr} \text{2-Methyl-4-amino-pyrimidin-5-}CH_2Br$$

Nach Cline und Williams[26]) wird Acetamidin mit Formyl-$\beta$-äthoxy-propionsäure-ester kondensiert, was zu dem gleichen Körper wie obige Synthese führt.

B. Nach Grewe[27]) wird Acetamidin mit Äthoxy-methylen-malondinitril zu einem Cyan-pyrimidin kondensiert, dessen Hydrierung ebenfalls die Pyrimidin-Komponente liefert.

$$H_3C{-}C(=NH){-}NH_2 + C_2H_5O{-}CH{=}C(C{\equiv}N){-}C{\equiv}N \longrightarrow$$

$$\text{2-Methyl-4-amino-5-}(C{\equiv}N)\text{-pyrimidin} \xrightarrow[\text{oder Palladium}]{H_2 + Pt} \text{2-Methyl-4-amino-pyrimidin-5-}CH_2\cdot NH_2$$

Zu gleichen Ergebnissen kommen ähnliche Verfahren, die Äthoxy-methylen-malonsäure-diäthyl-ester oder $\alpha$-Äthoxy-methylen-$\alpha$-cyano-essigsäure-äthylester verwenden[28]).

2. Die Thiazol-Komponente: Nach Hantzsch werden die Thiazole durch Kondensation von Thiosäureamiden mit $\alpha$-halogenierten Ketonen gewonnen. Clarke und Gurin[29]) stellen aus Na-acetessigester und $\beta$-Bromäthylessigester den $\alpha$-2-Acetoxyäthylacetessigester her,

[26]) J. K. Cline und R. R. Williams, J. amer. chem. Soc. **59**, 1052 (1937).

[27]) R. Grewe, Z. physiol. Chem. **242**, 89 (1936).

[28]) A. R. Todd und F. Bergel, J. chem. Soc. London **1937**, 364.

[29]) A. T. Clarke und S. Gurin, J. amer. chem. Soc. **57**, 1876 (1935); A. R. Todd und N. Jacob, J. chem. Soc. London **1936**, 1555.

der mit Sulfurylchlorid in den α-Chlor-α-2-acetoxyäthylacetessigester umgewandelt wird. Dieser wird mit Schwefelsäure und Alkohol in das Methyl-α-chlor-γ-acetoxy-propylketon verwandelt:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ HCNa + Br.CH_2.CH_2.O.COCH_3 \\ | \\ COOC_2H_5 \end{array} \longrightarrow$$

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH-CH_2.CH_2.O.COCH_3 \\ | \\ COOC_2H_5 \end{array} \xrightarrow[\text{und folgende Ketonspaltung in wäßr. alk. Schwefelsäure}]{SO_2Cl_2} \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ HC-Cl \\ | \\ CH_2.CH_2.O.COCH_3 \end{array}$$

Methylchloracetoxypropylketon gibt mit Thioformamid das entsprechende Thiazol, welches über das Chlorid in 4-Methyl-5-oxäthyl-thiazol umgewandelt wird.

$$+ \; H_2N-CH=S \rightarrow \text{Thiazol (4-}CH_3\text{, 5-}CH_2.CH_2.O.C_2H_5) \xrightarrow{HCl} \text{Thiazol (4-}CH_3\text{, 5-}CH_2.CH_2.Cl) \rightarrow \text{Thiazol (4-}CH_3\text{, 5-}CH_2.CH_2OH)$$

Nach Andersag und Westphal[25]) kann man statt Thioformamid Rhodanbarium verwenden.

3. Die Vereinigung der Komponenten: Die Vereinigung der Komponenten geht bei höherer Temperatur vor sich:

$$\text{Pyrimidin (2-}H_3C\text{, 4-}NH_2\text{, 5-}C-CH_2.Br) + \text{Thiazol (N; 4-}CH_3\text{, 5-}CH_2.CH_2OH) \longrightarrow$$

$$\text{Pyrimidin (2-}H_3C\text{, 4-}NH_2\text{)}-C-CH_2-N(Br)\text{-Thiazol (4-}CH_3\text{, 5-}CH_2-CH_2OH)$$

Aneurin-bromid

4. *Anbau des Thiazol-Ringes an den Pyrimidin-Ring*: Diese Art der Synthese stellt eine modifizierte Thiazolsynthese dar, indem man an das 2-Methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin den Thiazolring unmittelbar anbaut. Man gelangt mit Di-thio-Na-formiat zum *2-Methyl-4-amino-5-thio-formamido-methyl-pyrimidin*, das mit *Methyl-α-chlor-γ-oxypropyl-keton* (Enolform) unmittelbar das *Aneurinhydrochlorid* gibt[28]):

CH; N; C—$CH_2$.$NH_2$; C; C; $H_3C$; N; $NH_2$ + SNa; CH; S ⟶ CH; N; C—$CH_2$.NH; HC=S +; C; C; $H_2C$; N; $NH_2$

2-Methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin — Dithio-Na formiat — 2-Methyl-4-amino-5-thio-formamido-methyl-pyrimidin

HO—C—$CH_3$; C—$CH_2$.$CH_2OH$; Cl ⟶ *Aneurin-chlorhydrat*

Methyl-α-chlor-γ-oxypropyl-keton (Enolform)

$CH_3$; CH; C; C—$CH_2$—$CH_2OH$; N; C—$CH_2$—N; Cl; CH; S; C; C; $H_3C$; N; $NH_2$

## Die Methodik der Synthese

Im folgenden wird eine Auswahl der wichtigsten Reaktionen gegeben, die für die Durchführung der Synthese bedeutungsvoll oder eigentümlich sind. Wie im vorhergehenden Abschnitt gezeigt wurde, verlaufen die ersten vier Stufen der drei Synthesen einheitlich. Allen Synthesen gemeinsam ist der Aufbau des Pyrimidinkernes, die Einführung der Methylgruppe in 2-Stellung und der Amino-Gruppe in 4-Stellung.

1. *Aufbau des Pyrimidin-Ringes*: Ein Gemisch von 73 g β-Äthoxy-propionsäure-äthylester und 40 g Ameisensäure-äthylester wird im Laufe von 8 Stunden zu 12 g mit Äther bedeckten Natriumdraht getropft. Das gebildete Reaktionsprodukt wird ohne Isolierung weiterverarbeitet.

Zu diesem rohen Reaktionsprodukt werden 45 g Acetamidinhydrochlorid, 100 ccm absoluter Alkohol und eine Lösung von 12 g Natrium in 200 ccm absolutem Alkohol gegeben. Nach dem Abdestillieren des Äthers wird das

Gemisch 16 Stunden am Rückflußkühler erhitzt, hierauf mit 10proz. Essigsäure neutralisiert und das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen, wiederholt mit Chloroform extrahiert und die vereinigten Extrakte im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird mit Dioxan behandelt und die zurückbleibende weiße Substanz im Hochvakuum bei 140° sublimiert. Ausbeute an 2-Methyl-5-äthoxymethyl-6-oxypyrimidin: 3,5%.

1 g dieses Körpers wird 3 Stunden mit 8 g Phosphoroxychlorid auf 78° erhitzt und der Überschuß an Phosphoroxychlorid im Vakuum abdestilliert. Zum Rückstand fügt man etwas Eis und Wasser und neutralisiert mit Na-Bicarbonat. Die Lösung wird wiederholt mit Chloroform extrahiert und die Auszüge nach dem Trocknen über Na-Sulfat im Vakuum abdestilliert. Ausbeute an 2-Methyl-5-äthoxymethyl-6-chlorpyrimidin: 70%.

Der vorstehende Chlorkörper wird in einer Menge von 1 g mit 15 ccm gesättigtem alkoholischem Ammoniak im Bombenrohr 15 Stunden auf 140° erhitzt, hierauf im Vakuum konzentriert und der Rückstand in wenig Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Soda alkalisch gemacht, wiederholt mit Chloroform extrahiert und die Auszüge im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird in der Wärme mit Äther ausgezogen und aus der ätherischen Lösung krystallisiert das Aminopyrimidin in großen Krystallen aus, die durch Sublimation im Hochvakuum bei 60—80° gereinigt werden. Ausbeute an 2-Methyl-5-äthoxymethyl-6-amino-pyrimidin: 70%.

Das Aminopyrimidin wird 2 Stunden mit 10proz. Bromwasserstoff und Eisessig auf 100° erhitzt. Nach dem Erkalten werden die gebildeten Krystalle abgetrennt, mit Äther gewaschen und dann aus der methylalkoholischen Lösung mit Äther gefällt. Ausbeute an 2-Methyl-5-brommethyl-6-aminopyrimidin-hydrobromid: 90%.

2. Aufbau des Thiazol-Ringes: 31 g $\gamma$-Acetopropylalkohol werden in 150 ccm Wasser gelöst und bei Zimmertemperatur unter Rühren 48 g Brom langsam zugefügt. Die wäßrige Schicht wird von einer geringen Ölmenge abgegossen, mit Äther extrahiert und die Ätherlösung über Na-Sulfat getrocknet. Der Äther wird im Vakuum abgedampft und die erhaltenen 30 g der rohen Bromverbindung, die sehr unbeständig ist, werden sofort zu 13 g rohem Thioformamid gegeben, das in 10 ccm Alkohol gelöst ist. Während der sofort einsetzenden Reaktion ist durch Kühlen von außen unter 60° zu halten. Am nächsten Tag wird die Reaktionsmischung am Wasserbad erwärmt, mit Wasser aufgenommen und mit Äther gewaschen. Das Thiazol wird durch Alkaliüberschuß

in Freiheit gesetzt, mit Äther extrahiert und die ätherische Lösung über Na-Sulfat getrocknet. Ausbeute an 4-Methyl-5-äthoxythiazol: 7,1 g.

3. Vereinigung der Komponenten: Gleiche Mengen 2-Methyl-5-brommethyl-6-aminopyrimidin-hydrobromid und 4-Methyl-5-$\beta$-oxyäthylthiazol werden in wenig Butanol gelöst und 15 Minuten auf 120° erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion werden die ausgeschiedenen Krystalle durch Zufügen von heißem absolutem Alkohol gelöst. Beim Erkalten krystallisiert das Vitamin $B_1$ aus, das durch Umkrystallisieren gereinigt werden kann. Ausbeute an reinem Vitamin $B_1$: 45%.

Der Gang einer zweiten Synthese ist folgender:

1. Aufbau des Pyrimidin-Kernes: Eine Mischung von 56,5 g Cyanessigsäure-ester, 72 g Orthoameisensäure-ester und 102 g Essigsäureanhydrid werden etwa $1^1/_2$ Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Man destilliert hierauf alle Bestandteile, die bis zu 150° übergehen, ab und destilliert den Rückstand im Vakuum. Es wird aus Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute an $\alpha$-Äthoxymethylen-$\alpha$-cyanessigsäure-äthylester: 47%.

75 g des obigen Esters werden in kleinen Anteilen zu einer eiskalten Lösung von 41,7 g Acetamidinhydrochlorid und 10,2 g Natrium in 300 ccm Alkohol zugegeben. Man läßt bei 0° über Nacht stehen und krystallisiert den Niederschlag aus Äthylacetat um. 36 g dieses Niederschlages werden 5 Minuten mit einer Lösung von 9 g NaOH in 360 ccm Wasser erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit Essigsäure neutralisiert und im Vakuum zur Hälfte eingeengt. Das ausfallende 4-Oxy-5-cyan-2-methylpyrimidin wird aus Wasser umkrystallisiert. Hierauf werden 5 g davon mit 15 ccm Phosphoroxychlorid am Rückflußkühler während 30 Minuten erhitzt, das überschüssige Phosphoroxychlorid im Vakuum abdestilliert und der Rückstand in Eiswasser gegossen. Nach dem Neutralisieren mit Kaliumcarbonat wird mit Äther extrahiert. Das 4-Chlor-5-cyan-2-methylpyrimidin krystallisiert aus.

2 g dieses Chlorpyrimidins werden mit 6 ccm gesättigtem alkoholischem Ammoniak 4 Stunden in der geschlossenen Röhre auf 100° erhitzt, der Alkohol und das Ammoniak im Vakuum verjagt und der Rückstand mit 100 ccm Chloroform gekocht. Es wird von ungelöstem Ammoniumchlorid abfiltriert und das Lösungsmittel verdampft. Das 4-Amino-5-cyan-2-methylpyrimidin wird aus Methanol umkrystallisiert.

Derselbe Körper kann auch nach folgender Vorschrift erhalten werden:

Zu einem aus 500 ccm Alkohol und 12,8 g Natrium bereiteten Natriumäthylat werden bei 0° 25,3 g Acetamidin-hydrochlorid und 60 g Äthoxymethylen-malonsäure-diäthyl-ester (aus Malonsäure-diäthylester und Orthoameisensäureester in Gegenwart von Essigsäureanhydrid und etwas Chlorzink, 10—12 Stunden am Rückflußkühler gekocht) gegeben. Nach einer Stunde wird noch 1 Stunde am Rückflußkühler gekocht und der Alkohol abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser verdünnt und der überschüssige Ester mit Äther extrahiert. Die wäßrige Lösung wird mit Essigsäure angesäuert und das Reaktionsprodukt mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Ausbeute an 4-Oxy-2-methylpyrimidin-5-carbonsäure-äthylester: 60%.

Vorstehende Verbindung (96 g) und 250 ccm Phosphoroxychlorid werden 30 Minuten am Rückflußkühler erhitzt. Nach dem Abdestillieren des überschüssigen Oxychlorids wird der harzige Rückstand mit wenig Eiswasser behandelt, das etwas Pottasche enthält. Die Lösung wird mit Chloroform extrahiert und die getrocknete Chloroformlösung abdestilliert. Der Rückstand wird im Autoklaven 3 Stunden mit 10 Volumen 4-n-alkoholischem Ammoniak auf 100° erhitzt, Alkohol und Ammoniak unter vermindertem Druck entfernt und der 4-Amino-2-methyl-pyrimidin-5-carbonsäure-äthyl-ester aus Wasser umkrystallisiert. Ausbeute 65%.

50 g des feingepulverten Aminoesters werden bei Zimmertemperatur 36 Stunden mit 320 ccm Ammoniak (d = 0,880) geschüttelt. Das gebildete Säureamid wird aus Alkohol umkrystallisiert. 2 g des Säureamids werden hierauf am Rückflußkühler 2—3 Stunden mit Phosphoroxychlorid erhitzt, auf Eis gegossen und mit Kaliumcarbonat alkalisch gemacht. Es wird mit Chloroform ausgezogen und die Krystalle aus Methanol umkrystallisiert. Ausbeute an 4-Amino-5-cyan-2-methylpyrimidin: 50%. Es ist zu beachten, daß die Ausbeuten beim Arbeiten mit größeren Ansätzen stark sinken.

2. Anbau des Thiazolringes: Die aus einem der beiden vorstehenden Verfahren gewonnene Verbindung wird in Eisessig mit Platinmohr oder Palladiumtierkohle mit Wasserstoff hydriert. Eine wäßrige Lösung des erhaltenen 5-Aminomethyls wird mit Kaliumbicarbonat neutralisiert und 1,2 Mol. Kalium-dithio-formiat zugefügt. Das gebildete 4-Amino-5-thioformamidomethyl-2-methylpyrimidin wird aus Alkohol umkrystallisiert.

Eine Lösung von 152 g Natriumacetessigester und 167 g Bromäthylessigester in 700 ccm trockenem Benzol werden im Wasserbad 6 bis 10 Stunden erhitzt, abgekühlt, in Eiswasser gegossen und mit Äther ex-

trahiert. Der Äther wird abgedampft und es wird im Vakuum destilliert. Zu 123 g des so erhaltenen α-2-Acetoxyäthyl-acetessigesters werden bei 0° unter Rühren im Verlauf einer Stunde 82 g Sulfurylchlorid gegeben. Nach einer weiteren Stunde wird mit 250 ccm Äther verdünnt, am Rückflußkühler erhitzt, um Chlorwasserstoff und Schwefeldioxyd wegzutreiben und schließlich nach dem Abdestillieren des Äthers im Vakuum fraktioniert destilliert. Ausbeute an α-Chlor-2-acetoxy-äthyl-acetessig-ester: 86%. Der so erhaltene chlorierte Ester wird 4 Stunden am Rückflußkühler mit 1 Vol. 35proz. Schwefelsäure und 2 Vol. Alkohol erhitzt, dann in Wasser gegossen und die Lösung mit Äther extrahiert. Der Äther wird abdestilliert und das erhaltene Öl fraktioniert. Man erhält in einer Ausbeute von 40% das Methyl-α-chlor-γ-acetoxy-propylketon.

Zum Ringschluß werden 5 Teile des Thioformamides und 6 Teile des Propylketons 15 Minuten im Paraffinbad auf 115—120° erhitzt. Die Masse wird nach dem Erkalten wiederholt mit trockenem Äther verrieben. Zum Schluß behandelt man mit angesäuertem (HCl) Alkohol, aus dem das Vitamin-$B_1$-hydrochlorid krystallisiert.

## Die Darstellung des Vitamin $B_1$

Allgemeines: Das Vitamin $B_1$ ist löslich in Wasser umd wäßrigem Alkohol. Es läßt sich jedoch aus ungereinigten Extrakten schon mit 80proz. Alkohol ausfällen. In solchen ungereinigten Lösungen ist die Löslichkeit stark von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig.

In Äther, Chloroform und Benzol ist das Vitamin $B_1$ unlöslich. In verdünntem Aceton ist es gut löslich. Ähnlich sind die Löslichkeitsverhältnisse bei dem Hydrochlorid des Aneurins. Löslich in Wasser, Methylalkohol und Äthylalkohol, ist es in Benzol, Äther, Chloroform und wasserfreiem Aceton unlöslich.

Aus Hefe und Reisschalen läßt sich das Aneurin mit Wasser, 70proz. Alkohol und 75proz. Aceton extrahieren. Die meist in der Wärme vorgenommene Extraktion kann das Vitamin schädigen, wenn Temperatur und Zeitdauer der Extraktion zu hoch sind. Es ist zu erwähnen, daß dreistündiges Erhitzen auf 100° weder in wäßriger reiner Lösung noch in Form von Extrakten das Vitamin nennenswert schädigt. Einstündiges Erhitzen auf 120° schädigt dagegen das Vitamin zu 50%, und einstündiges Erhitzen auf 140° zerstört es vollkommen.

Von besonderer Wichtigkeit für die Vitamin-$B_1$-Gewinnung ist, daß es sich an Fullererde adsorbieren läßt. Aus dem Adsorbat kann es

durch verdünnte Barytlösung in der Kälte wieder eluiert werden. Aus den auf diese Weise schon stark angereicherten Extrakten kann das Vitamin durch Phosphorwolframsäure gefällt werden. Zur Entfernung vieler anderer Begleitstoffe kann man diese mit basischem Bleiacetat ausfällen; das Vitamin $B_1$ wird von diesem Fällungsmittel nicht ausgeschieden. Zur Entfernung der meist in großer Menge in den Extrakten vorhandenen Purine können diese mit Silbernitrat in saurer Lösung ausgefällt werden, wobei das Aneurin nicht verändert wird.

Nachdem das Aneurin in wäßriger Lösung von Benzoylchlorid und Soda nicht angegriffen wird, wohl aber eine große Menge von Begleitstoffen dadurch chloroformlöslich gemacht werden und sich mit Chloroform ausschütteln lassen, hat das Amer. Pat. 1 937 671 ein Reinigungsverfahren auf dieser Grundlage geschützt. Das Fullererdeadsorbat kann mit Lösungen von mehrwertigen organischen Stickstoffbasen, z. B. Chininsulfat, eluiert werden. Das Amer. Pat. 2 049 988 beschreibt ein Verfahren, nach welchem ein Adsorbat eines Extraktes aus 100 kg Reishülsen an 3 kg Fullererde durch 15 Liter 5proz. kongosaure Chininsulfatlösung eluiert wird.

Zur Gewinnung aus natürlichen Quellen werden meistens Hefe oder Reishülsen verwendet. Im allgemeinen wird mit Wasser extrahiert, an Fullererde adsorbiert und mit schwachen Alkalien oder Chininsalzen eluiert. Aus dem Eluat wird das Vitamin mit Silbernitrat-Bariumhydroxyd gefällt, das abgeschiedene Silbersalz in das Phosphorwolframat und dieses in das Pikrolonat umgewandelt. Aus diesem stellt man das Hydrochlorid dar oder isoliert über das Goldsalz.

Im allgemeinen genügen in der Nahrungsmitteltechnik genügend angereicherte Vitamin-$B_1$-Konzentrate, die nach besonderen Verfahren aus Bierhefe oder Reishülsen hergestellt werden. Aus diesen Konzentraten läßt sich das reine Aneurin über eines der Salze gewinnen. Im folgenden sollen daher zuerst solche Konzentrate und ihre Gewinnung beschrieben werden.

Vitamin-$B_1$-Konzentrate:

1. Aus Reishülsen: Als ältestes deutsches Patent zur Vitamingewinnung kann hier das DRP. 266 211 erwähnt werden, nach welchem Reisschalen mit Alkohol extrahiert werden. Der Extrakt wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Ammonsulfat gesättigt und dann mit Alkohol ausgeschüttelt.

Nach den DRP. 311 074 und 359 878 werden Reishülsen bei niedrigen Temperaturen mit Fermenten aufgeschlossen und das Reaktions-

produkt mit 80proz. Alkohol extrahiert. Der Alkohol wird bei niederer Temperatur abdestilliert und der wäßrige Rückstand zuerst sauer, dann neutral mit Bleiacetat gefällt. Die Bleiniederschläge werden entfernt und im entbleiten Filtrat wird das Vitamin $B_1$ entweder mit Mercurisulfat oder mit Phosphorwolframsäure gefällt. Aus den Niederschlägen wird das Vitamin mit Schwefelwasserstoff oder mit Baryt in Lösung gebracht. Die wäßrige Lösung wird eingedampft. Die erhaltenen, Vitamin-$B_1$-reichen Präparate sind in Wasser vollkommen löslich.

Das Amer. Pat. 2 114 775 verwendet zur Extraktion 15proz. Alkohol, der mit Schwefelsäure auf $p_H = 4{,}5$ gebracht wird. Der Extrakt wird mit Bariumhydroxyd neutralisiert, das Bariumsulfat abfiltriert und das Filtrat bei einer Temperatur von 75—80° durch eine Zeolithschicht filtriert. Das Vitamin wird von dieser Schicht adsorbiert und dann mit Ammoniumnitrat eluiert.

Man kann auch, nach dem Amer. Pat. 2 015 876, mit Essigsäure angesäuerten 25proz. Alkohol zur Extraktion verwenden. Die weitere Reinigung erfolgt durch Adsorption aus saurer ($p_H = 5{,}6$) Lösung an Norit, das mit verdünnter Salzsäure bei 65—70° vorbehandelt ist. Das Vitamin wird vom Norit mit n/10-Salzsäure eluiert. Der Rohextrakt kann auch nach dem Amer. Pat. 1 889 427 gereinigt werden, indem er in Eisessig gelöst wird, worauf man wasserfreies Aceton zusetzt und damit einen großen Teil der unwirksamen Verunreinigungen ausfällt.

Ein Vitamin-$B_1$-Konzentrat aus Reishülsen durch Adsorption des Vitamins an Fullererde erhält man nach folgendem Verfahren:

Die Reishülsen werden mit der 10fachen Gewichtsmenge chloroformgesättigtem Wasser bei 70° extrahiert. Das Filtrat wird mit Salzsäure auf $p_H = 4{,}5$ gebracht und es werden auf 100 kg Reishülsen 2 kg Fullererde zugegeben. Man rührt einen Tag, läßt absitzen und gießt die überstehende Flüssigkeit ab. Die Fullererde wird zentrifugiert, mit verdünnter Salzsäure und Alkohol gewaschen und dann mit einem Gemisch von 350 ccm Wasser, 120 ccm 95proz. Alkohol und 60 ccm konz. Salzsäure bei 50—60° während 30 Minuten eluiert. Das Eluat wird im Vakuum eingeengt.

2. Aus Bäckerhefe: 6,5 kg Bäckerhefe werden 3 Tage lang bei 15—20° aufbewahrt. Die Hefe wird in kleinen Portionen in 3,5 Liter siedendes Wasser eingetragen und die Mischung danach 5 Minuten zum Sieden erhitzt. Die Hefe wird abfiltriert und nochmals in derselben Weise behandelt. Die vereinigten Filtrate, etwa 5600 ccm, werden mit 400 ccm 25proz. neutralem Bleiacetat gefällt. Man filtriert durch große Faltenfilter (am besten über Nacht), ohne den Niederschlag auszuwaschen. Aus-

beute 5000 ccm Filtrat. Man versetzt die Lösung mit 3—4000 ccm einer kalt gesättigten Barytlösung. Sollte dabei kein Niederschlag entstehen. gibt man noch etwa 12 ccm der Bleiessiglösung zu. Der Niederschlag wird möglichst schnell abfiltriert. Man erhält ein klares gelbes Filtrat, das in Schwefelsäure aufgefangen wird. Nach beendigter Filtration säuert man die Lösung mit Schwefelsäure (kongosauer) an und filtriert das ausgefallene Bariumsulfat ab. Etwa 10 Liter Filtrat. Die Lösung wird mit Natronlauge und Schwefelsäure auf pH = 2,5 gebracht und mit 80 bis 100 ccm Mercurisulfat in Schwefelsäure (Hopkins-Reagens) gefällt. Der ausgefallene Niederschlag wird abfiltriert. Sollte im Filtrat eine Fällung entstehen, wird sie nicht entfernt. Wichtig ist ein nicht zu großer Hg-Überschuß. 10 ccm der Lösung sollen mit einem Tropfen Reagens keine dicke Fällung geben.

Das Filtrat der Hg-Fällung wird mit Natronlauge auf pH = 7 gebracht und zunächst mit 60 g, dann mit 20 g Noritkohle verrührt (je 10 Minuten). Die Kohle wird mit destilliertem Wasser gewaschen und getrennt aufgearbeitet. Man eluiert mit einer Lösung von 200 ccm n/10-HCl auf dem Wasserbad. Das Filter wird mitextrahiert (Vorsicht, bei alkalischer Reaktion der Lösung sofort HCl nachgeben! Stets kongosauer halten). Nach 2stündigem Erhitzen wird abfiltriert und die Kohle in derselben Weise zum zweitenmal behandelt. Die 20-g-Portion wird ebenso eluiert. Die klaren Filtrate werden mit Bariumchlorid von der Schwefelsäure befreit und im Vakuum auf 50 ccm (bei 60°) eingeengt. Für den Tierversuch werden die Lösungen, durch Zusatz von 15% Alkohol konserviert, im Eisschrank aufbewahrt.

Man kann die Kohle noch ein zweites Mal mit einer Lösung von 50proz. Alkohol unter Zusatz von 1% HCl behandeln. Es werden je 150 ccm zu zwei Elutionen genommen. Der Extrakt ist aber weniger wirksam. Die Ausbeute beträgt aus obiger Hefemenge etwa 2000 kurative Taubentagesdosen. Die Wirksamkeit schwankt zwischen 0,4 bis 1 mg pro Tier und Tag. Da der Extrakt noch gewisse Mengen von Schwermetallen aus der Darstellung enthält, wird der Extrakt nach der Entfernung des Alkohols auf pH = 4,5 gebracht, mit Schwefelwasserstoff behandelt, der Niederschlag abfiltriert und zur Entfernung der $H_2S$ kurze Zeit aufgekocht. Nach dem Einengen im Vakuum kann eine fraktionierte Alkoholfällung angeschlossen werden. Der Extrakt soll zweckmäßig nicht zur Trockne gebracht werden.

3. Aus Bierhefe: 4,8 kg einer mit Eiswasser gewaschenen Brauereihefe werden in 10 Liter Wasser, die 0,01% Essigsäure enthalten, bei 100° eingetragen und 5 Minuten zum Sieden erhitzt. Man fil-

triert und wiederholt mit dem Heferückstand die Extraktion. Die Filtrate werden auf 2 Liter eingeengt und in 3 Liter 93proz. Alkohol eingetragen. Der Niederschlag (Fraktion I) wird mit 53proz. Alkohol gewaschen und getrocknet. Ausbeute 35,9 g. Das Filtrat der ersten Fällung wird wieder auf 300 ccm eingeengt und mit 1,96 Liter 95proz. Alkohol versetzt. Der Niederschlag (Fraktion II) wird wie oben behandelt. Ausbeute 51,8 g. Zur Reinigung löst man den Niederschlag in 100 ccm Wasser und fällt die Lösung mit Alkohol bei einer Konzentration von 90%. Die gesamte wirksame Substanz findet sich in Fraktion II. Es genügen davon als tägliche Dosis für die Ratte 6,2 mg. —

Für die Gewinnung von Vitamin-$B_1$-Konzentraten aus getrockneter Bierhefe wird folgendes Verfahren vorgeschlagen:

10 kg Trockenhefe werden mit 5 Liter Wasser-Alkohol (1 : 1) angefeuchtet, gedämpft und hierauf mit 20 Liter Wasser-Alkohol durch Perkolieren extrahiert. Die Extrakte werden unter vermindertem Druck eingeengt. Am günstigsten soll sich 70proz. Alkohol erweisen, da dabei eine 80proz. Vitaminausbeute erreicht wird, während nur 10% Hefebestandteile in Lösung gehen. Nach dem D R P. 320 785 soll eine 20 bis 24stündige Hydrolyse der Hefe mit verdünnten Mineralsäuren das Vitamin $B_1$ nicht zerstören, wenn während der ganzen Dauer der Hydrolyse eine Temperatur von 80° genau eingehalten und auf keinen Fall überschritten wird. Diese Methode soll die Ausbeuten erhöhen.

Eine Reihe weiterer Methoden zur Darstellung von Vitamin-Konzentraten aus Bierhefe werden in dem Buch: H. Vogel, Die Technik der Bierhefe-Verwertung, diese Sammlung Nr. 42, Stuttgart 1939, beschrieben.

4. Aus Weizenembryo: 100 kg Weizenembryo werden mit 254 Liter 50 vol.-proz. Alkohol unter Zusatz von 0,5% konz. Salzsäure zweimal je 3—4 Stunden bei 60—70° extrahiert. Das gelbe Filtrat wird im Vakuum zur Trockne gebracht. Ausbeute: 20 kg einer gelben viscosen Masse. Diese Masse hat eine Wirksamkeit von 77 mg pro Tag im Rattenwachstumsversuch.

Dieser Extrakt kann auf zweierlei Weise weiter gereinigt werden.

A. Die aus 49 kg hergestellte Extraktmenge wird in 22 Liter Wasser gelöst und mit 1,2 kg Bleiacetat in 50proz. Lösung versetzt. Der Niederschlag wird abfiltriert und gewaschen. Das Filtrat (etwa 25 Liter) wird mit Salzsäure (etwa 310 ccm) angesäuert (kongosauer). Die Lösung wird mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und im Vakuum eingedampft. Wirksamkeit 52 mg.

B. 2 kg des Extraktes werden in 20 Liter destilliertem Wasser gelöst, mit 1 kg Fullererde geschüttelt und nach 12 Stunden filtriert. Die Fullererde wird mit Wasser vom pH = 4—5 gewaschen und mit Baryt in kleinen Portionen fein gemahlen. Hierauf wird mit Wasser versetzt, filtriert und das Filtrat in verdünnter Schwefelsäure aufgefangen, vom Bariumsulfat befreit und im Vakuum auf 750 ccm eingeengt. Wirksamkeit 3 mg pro Tag.

Der nach Verfahren B erhaltene Extrakt kann wie folgt weiter angereichert werden: die 750 ccm Extrakt werden auf pH ≐ 1,8 eingestellt und mit 45 ccm einer 50proz. Silbernitratlösung (Überschuß) versetzt. Ein Tropfen der Lösung muß auf Zusatz von Baryt braun werden. Die Lösung wird mit Baryt auf pH = 4,5 gebracht und der ausfallende Niederschlag abfiltriert. Dann gibt man zum Filtrat Barytlösung bis pH = 6,5 hinzu und bewahrt die Lösung über Nacht im Eisschrank auf. Der dunkelbraune Niederschlag wird abfiltriert und mit Salzsäure zerlegt. Wirksamkeit 0,21 mg.

Diese Fraktion wird mit Schwefelsäure versetzt (5%) und mit Phosphorwolframsäure in 5proz. Schwefelsäure gefällt (30 Stunden, Eisschrank). Man filtriert den Niederschlag ab, wäscht und verreibt ihn in 75 ccm 50proz. Aceton. Das Filtrat wird mit 300 ccm 5proz. Schwefelsäure versetzt und 40 Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Der dabei ausfallende Niederschlag wird mit 5proz. Schwefelsäure gewaschen und in 60 ccm 50proz. Aceton gelöst. Die Lösung wird mit 70 ccm gesättigtem Baryt versetzt und schnell filtriert. Das Filtrat wird in Schwefelsäure aufgefangen und mit Baryt genau neutralisiert. Wirksamkeit bei der Taube 0,014 mg, bei der Ratte 0,1 mg.

Die Lösung wird zur Trockne gebracht (bei höchstens 40°) und der Rückstand in 250 ccm absolutem Alkohol bei 60° gelöst. Der entstehende unwirksame Niederschlag wird entfernt. Die eingeengte Lösung wird mit 5proz. Platinchlorid in absolutem Alkohol gefällt und nach 40stündigem Stehen im Eisschrank filtriert. Der Niederschlag wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Man erhält eine farblose Lösung mit etwa 25 mg Substanz, die in Tagesdosen von 0,1 mg bei der Ratte und 0,00515 mg bei der Taube wirksam ist. Durch eine Goldchloridfällung in absolutem Alkohol kann das Aneurin in krystallisierter Form gewonnen werden.

Gewinnung von Konzentraten mit dem gesamten B-Komplex: Im Anschluß an die Gewinnung des $B_1$-Vitamins soll hier die Darstellung von Konzentraten beschrieben werden, welche alle Vitamine der Gruppe B enthalten. Im allgemeinen werden alle oben beschriebenen Rohextrakte die gesamten B-Vitamine enthalten. Es gibt aber eine

Reihe von Patenten, welche ausschließlich die Gewinnung solcher Konzentrate schützen. Man geht meistens von Hefe aus, die alle Vitamine des B-Komplexes in genügender Menge und in optimaler Mischung enthält.

Alle Verfahren bezwecken die Gewinnung möglichst angereicherter Konzentrate, die arm an Eiweißstoffen und anderen Inhaltssubstanzen der Hefezelle sein sollen. Das einfachste Verfahren dieser Art ist, trockene Hefe mit wasserfreiem Methylalkohol, der bis zu einer Konzentration von 4/n mit trockener HCl versetzt worden ist, zu extrahieren. Nach dem Abstumpfen der Säure kann das Lösungsmittel verjagt werden und man erhält von Fremdsubstanzen ziemlich befreite Konzentrate. Voraussetzung ist jedoch, daß die Trockenhefe selbst noch genügend reich an Vitaminen ist.

Ein einfaches Verfahren beschreibt das Amer. Pat. 1 474 029 und Zusatz-Pat. 1 488 815: Bierhefe wird mit 1proz. Essigsäure aufgekocht, filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Die halbfeste Masse wird mit 50—60proz. Alkohol extrahiert und der Extrakt wird mit absolutem Alkohol, Aceton usw. entwässert. Die resultierende, hygroskopische Masse kann direkt verwendet werden.

Nach dem Engl. Pat. 428 044 wird die Hefe vor der Extraktion mit Essigester oder Äther, Chloroform, Aceton, Dioxan usw. plasmolysiert. Aus den wäßrigen Hefeextrakten kann man nach dem DRP. 570 158 die Vitamine durch eine im Extrakt selbst erzeugte Fällung von Calciumsaccharat niederschlagen. Auch die Phosphorwolframsäureniederschläge lassen sich nach dem DRP. 295 361 weiter reinigen, indem man sie mit Aceton verreibt, wobei der größte Teil des Niederschlages in Lösung geht, so daß im Rückstand eine sehr vitaminreiche Phosphorwolframsäure-Fraktion verbleibt.

Magermilchpulver kann nach dem Amer. Pat. 2 052 218 zur Gewinnung von Vitamin-B-Konzentraten verwendet werden, indem das Trockenpulver mit der achtfachen Menge Wasser angerührt wird und die Mischung mit 0,3/n Salzsäure auf pH = 4,2 gebracht wird. Es sind dazu etwa 175 ccm Säure auf 100 g Pulver nötig. Es wird durch Tücher vom ausgefällten Casein abfiltriert und die Flüssigkeit durch weitere Filtration geklärt. Es wird hierauf mit Lloyds-Reagens (5 g Fullererde auf 1 Liter Flüssigkeit) bei pH = 3—4 versetzt und gerührt. Das Adsorbat wird hierauf eluiert nach einem der bekannten Verfahren.

Extraktionen mit Methanol mit 5% Salzsäure extrahieren die B-Vitamine ziemlich gleichmäßig, dagegen sind Extrakte mit 75proz. Äthylalkohol oder 70proz. Aceton fast frei von dem Vitamin $B_2$.

## 2. Vitamin $B_2$ (Lactoflavin) und Gelbes Ferment

In Pflanzen und Tieren kommen recht häufig wasserlösliche, stickstoffhaltige Farbstoffe von gelber Farbe und grüner Fluoreszenz vor, die bis vor wenigen Jahren kaum Beachtung fanden. Am frühesten lenkte der gelbe, wasserlösliche Farbstoff der Kuhmolke die Aufmerksamkeit auf sich. Im Jahre 1879 isolierte A. W. Blyth[1]) diesen Farbstoff als rotorange gefärbtes Harz, dem er den Namen Lactochrom gab. Im Jahre 1932 gewannen J. Banga und A. Szent-Györgyi[2]) ein goldgelb gefärbtes Atmungs-Coferment-Präparat aus Schweineherz-Kochsaft, dessen Farbkomponente sie den Namen Cytoflav gaben. Im selben Jahre stellten O. Warburg und W. Christian[3]) aus Hefe ein gelbes Oxydationsferment dar, aus dessen Farbkomponente sie ein krystallisiertes Abbauprodukt gewinnen konnten. Zu Beginn des Jahres 1933 isolierten R. Kuhn, P. György und Th. Wagner-Jauregg[4]) aus Eiklar und Molke die ersten natürlichen Vertreter dieser Farbstoffklasse in reiner, krystallisierter Form, nachdem P. György, R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg[5]) Beziehungen der gelben, wasserlöslichen Farbstoffe aus Leber, Niere, Herz, Hefe, Muskel, Eiklar, Molke, Spinat u. a. m. zum Vitamin $B_2$ aufgefunden hatten.

Ph. Ellinger und W. Koschara[6]) beschrieben zur gleichen Zeit verschiedene krystallinische Farbstoffpräparate aus Molke, die durch ihre gelbgrüne Fluoreszenz auffielen. Diese Autoren nannten solche Naturfarbstoffe Lyochrome, während Kuhn und Mitarbeiter die Bezeichnung Flavine (Ovoflavin, aus Eiklar; Lactoflavin, aus Molke) vorschlugen. Man kam überein, die einzelnen Vertreter der Gruppe als Flavine zu bezeichnen, während der Name Lyochrome für die ganze Gruppe wasserlöslicher Farbstoffe — im Gegensatz zu den fettlöslichen Lipochromen — vorbehalten bleibt. Man isolierte später auch aus Leber ein Hepaflavin und aus Harn ein Uroflavin. Sie erwiesen sich als identisch mit Lactoflavin von der Bruttoformel $C_{17}H_{20}O_6N_4$, das sich als das physiologisch wichtigste Flavin erwiesen hat. P. György, R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg[7]) konnten die Identität des Lactoflavins mit Vitamin $B_2$ nachweisen.

[1]) J. chem. Soc. London **1879**, 530.
[2]) Biochem. Z. **246**, 203 (1932).
[3]) Biochem. Z. **254**, 438 (1932); **257**, 492 (1933); **266**, 377 (1933).
[4]) Ber. **66**, 317, 676, 1034, 1577 (1933).
[5]) Naturwiss. **21**, 560 (1933); Klin. Wschr. **12**, 1241 (1933).
[6]) Ber. **66**, 315, 808, 1411 (1933).
[7]) Z. physiol. Chem. **223**, 21, 27, 236, 241 (1934).

Vitamin $B_2$ wurde ursprünglich als thermostabiler Anteil von Vitamin-B-haltigem Hefeextrakt definiert, der bei B-frei ernährten Ratten Wachstum hervorzubringen vermochte. Man trennte das Vitamin $B_2$ vom $B_1$ durch Erhitzen der Extrakte im Autoklaven auf 120° während 6 Stunden, wobei alles $B_1$, aber auch die Hälfte des Vitamins $B_2$ zerstört wird. Das früher als „Wachstumsvitamin" bezeichnete Lactoflavin geht im Organismus der Tiere und des Menschen in das „Gelbe Ferment" über, es ist also die Farbstoff-Komponente des wasserstoffübertragenden gelben Ferments[8]). Es stellt die vom Tier nicht synthetisierbare Wirkgruppe eines Flavinenzyms dar.

Vorkommen: Lactoflavin ist in der Natur weit verbreitet und findet sich in pflanzlichen und tierischen Materialien. Das Vorkommen in höheren Tieren ist abhängig von der zugeführten Nahrung, denn höhere Tiere sind zu einer Synthese im eigenen Organismus nicht befähigt. Zur Synthese der Lyochrome sind dagegen die Bakterien, Hefen und die Pflanzen befähigt. Es hat sich ergeben, daß mit dem Ansteigen der biologischen Wirkung auch der Gehalt an Flavinen ansteigt. Interessant ist ein gewisser Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Carotinoiden und Flavinen: Die durch besonders hohen Carotinoid-Gehalt ausgezeichneten Früchte (Aprikosen, Hagebutten, Tomaten usw.) und grünen Blätter (Spinat, Gras) zeichnen sich vielfach auch durch einen hohen Gehalt an Flavinen aus.

Nur in der Milch und in der Netzhaut, sowie im Harn, findet sich das Lactoflavin in freier Form. Sonst liegt es überall in tierischen und pflanzlichen Stoffen an Phosphorsäure und Eiweiß gebunden als Proteid vor. Das mit der Nahrung aufgenommene und durch Darmfermente freigemachte Lactoflavin wird bereits in der Darmschleimhaut wieder enzymatisch mit Phosphorsäure verestert. Die Bindung an Eiweiß findet erst im Innern des Organismus statt.

Das flavinreichste Gewebe des tierischen Körpers ist die Netzhaut des Auges. Sehr reich an Lactoflavin sind gewisse Bakterien, vor allem Milch- und Buttersäurebakterien. Für die technische Darstellung kommen Hefe und Molke in Betracht, die beide verhältnismäßig viel Lactoflavin enthalten. In Kartoffeln kommen sehr geringe Mengen vor, die zur Versorgung des menschlichen Organismus an Vitamin $B_2$ nicht ausreichen.

Über den Gehalt an Lactoflavin in den verschiedensten tierischen und pflanzlichen Stoffen gibt die Tabelle 21 Aufschluß.

Konstitution: Bei der alkalischen Photolyse des Lactoflavins (Belichten in alkalischer Lösung) wird das Molekül in zwei Teile gespalten, von denen der eine sauerstoffreich ist und bei

[8]) O. Warburg und W. Christian, Biochem. Z. 266, 379 (1934).

Tabelle 21

| Material | mg Flavin/kg |
|---|---|
| **Bakterien:** | |
| Essigbakterien (Bact. Pasteurianum) . . | 15 |
| Bierhefe (Schultheiß-Patzenhofer) . . . | 30 |
| Bäckerhefe . . . . . . . . . . . | 36 |
| Milchsäurebakterien (Bact. Delbrückii) . | 115 |
| Buttersäurebakterien (Clostrid. butyricum) | 136 |
| Trockenhefe (Löwenbräu) . . . . . . | 18 |
| Bacillus subtilis . . . . . . . . . . | 8 |
| **Pflanzliche Produkte:** | |
| Apfelsinensaft, sterilisiert . . . . . . | 0,089 |
| Weißwein (Pfalz 1933, Oberhaardt) . . | 0,125 |
| Traubensaft, sterilisiert . . . . . . . | 0,06 |
| Helles Bier (Spatenbräu, Munchen) . . | 0,29 |
| Tannenhonig (1933) . . . . . . . . | 1,06 |
| Bananen, geschält . . . . . . . . . | 0,075 |
| Aprikosen, getrocknet . . . . . . . | 0,57 |
| Hagebutten, frisch . . . . . . . . . | 0,069 |
| Tomatenmark . . . . . . . . . . . | 0,71 |
| Karotten, frisch . . . . . . . . . | 0,20 |
| Spinat, frisch . . . . . . . . . . | 0,57 |
| „ , getrocknet . . . . . . . . . | 5,70 |
| Heumehl (getrocknete Luzerne) . . . . | 7,17 |
| Gras, frisch . . . . . . . . . . . | 1,42 |
| Kartoffeln (Pfälzer) . . . . . . . . | 0,075 |
| Weizenkleie . . . . . . . . . . . | 0,33 |
| Malzextrakt (E. Löflund) . . . . . . | 2,10 |
| Klee . . . . . . . . . . . . . . | 0,33 |
| **Tierische Produkte:** | |
| Molke . . . . . . . . . . . . . . | 0,45 |
| Vollmilch . . . . . . . . . . . . . | 1,0 |
| Eieralbumin, trocken . . . . . . . . | 14,1 |
| Rindsleber, frisch . . . . . . . . . | 15,9 |
| Dorschleber, frisch . . . . . . . . | 0,53 |
| Menschenharn . . . . . . . . . . . | 0,075 |
| Niere, Rind . . . . . . . . . . . . | 10—20 |
| Rinderblut . . . . . . . . . . . . | 0,025 |
| Nebenniere, Rind . . . . . . . . . | 5—10 |
| Corpus luteum, Rind . . . . . . . . | 5—10 |
| Gehirn, Rind . . . . . . . . . . . | 1—5 |
| Lunge, Rind . . . . . . . . . . . . | 0,5—1,0 |
| Auge, Rind . . . . . . . . . . . . | 1—5 |
| „ , Schaf, Huhn . . . . . . . . . | 1—5 |
| „ , Fische . . . . . . . . . . . | 10—20 |

der Acetylierung ein Tetraacetat gibt; es müssen somit vier Hydroxylgruppen vorliegen. Eine dieser Hydroxylgruppen muß primär sein, da die Oxydation mit Bleitetraacetat 0,75 Mol. Formaldehyd gibt. Außerdem gibt der Körper eine Di-aceton-verbindung, so daß die Hydroxylgruppen benachbart in einer Kette angeordnet sein müssen: —CHOH—CHOH—CHOH—$CH_2OH$.

Das andere bei der alkalischen Photolyse des Lactoflavins erhaltene Spaltstück Lumi-lactoflavin $C_{13}H_{12}O_2N_4$ geht durch gelinde Behandlung mit Natronlauge in eine Oxocarbonsäure $C_{12}H_{12}O_3N_2$ über, aus der durch Decarboxylierung das Lactam $C_{11}H_{12}ON_2$ entsteht. Durch energischen Abbau mit Natronlauge entsteht sowohl aus Lumi-lactoflavin, als auch aus der Oxocarbonsäure und dem Lactam 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol. Da Lumi-lactoflavin eine N-Methylgruppe enthält, war seine Konstitution mit diesen Abbaureaktionen bewiesen[9]).

Lumi-lactoflavin (6.7.9-Trimethyl-iso-alloxazin)

NaOH

1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol

gelinde Alkali-Beh.

NaOH

NaOH

Decarboxylierung

Oxocarbonsäure $C_{12}H_{12}O_3N_2$

Lactam $C_{11}H_{12}ON_2$

Beim Belichten des Lactoflavins in neutraler Lösung oder bei der Oxydation mit Bleitetraacetat entsteht 6.7-Dimethyl-alloxazin (Lumichrom). Die mit Jodwasserstoff im Lumi-lactoflavin nachweisbare N-Methylgruppe läßt sich am Lactoflavin selbst nicht nachweisen, sie muß also erst bei der alkalischen Photolyse entstehen. Damit ist als Haftstelle des abgespaltenen Tetraoxybutylrestes das am Stickstoffatom 9 haftende C-Atom erkannt. Die Konfiguration der Zuckeralkoholkette wurde durch die Synthese als der d-Ribose zugehörig ermittelt. Für das Lactoflavin ergibt sich somit die Konstitution eines 6.7-Dimethyl-9-d-ribo-flavins oder 6.7-Dimethyl-9-(d-1′-ribityl)-iso-alloxazins, $C_{17}H_{20}O_6N_4$.

---

[9]) Ph. Ellinger und W. Koschara, Ber. **66**, 1411 (1933); R. Kuhn und H. Rudy, Ber. **67**, 892, 1125, 1298, 1770, 1826, 1936 (1934).

$CH_2OH$ (5′)
HOCH (4′)
HOCH (3′)
HOCH (2′)
$CH_2$ (1′)

Lactoflavin $C_{17}H_{20}O_6N_4$ —neutr. Photolyse→ 6.7-Dimethyl-alloxazin (Lumichrom)

Im Jahre 1935 konnten R. Kuhn[10]) und Mitarbeiter das Lumilactoflavin synthetisieren. Die Reaktionsfolge ist durch die nachstehenden Formelbilder wiedergegeben:

$C_7H_7SO_2Cl$ → $NHSO_2 . C_7H_7$ — Methylierung →

$N(CH_3)—SO_2 . C_7H_7$ — $H_2SO_4$ → $NHCH_3$, $NO_2$ — Red. → $NHCH_3$, $NH_2$ +

+ Alloxan → Lumiflavin

[10]) R. Kuhn, K. Reinemund und F. Weygand, Ber. 67, 1460 (1934); 68, 1765 (1935); R. Kuhn und K. Reinemund, Ber. 67, 1932 (1934); 68, 170 (1935); R. Kuhn und F. Weygand, Ber. 67, 1409 (1934).

Lactoflavin selbst kann nach einer Reihe von Verfahren synthetisiert werden. Sie alle bezwecken zuerst die Darstellung eines 1.2-Dimethyl-4-amino-5-d-1'-ribityl-amino-benzols, das dann mit Borsäure in saurer Lösung mit Alloxan kondensiert wird:

5' $CH_2OH$
4' HOCH
3' HOCH
2' HOCH
1' $CH_2$
$H_3C$, NH, $H_3C$, $NH_2$ + HO, N, C, CO, C, NH, O, CO ⟶ $CH_2OH$, HOCH, HOCH, HOCH, $CH_2$, $H_3C$, N, N, C, CO, C, NH, $H_3C$, N, CO

1.2-Dimethyl-4-amino-5-d-1'-ribityl-amino-benzol + Alloxan — Lactoflavin

Zur Darstellung des Dimethyl-aminoribityl-aminobenzols sind vor allem vier Methoden zu nennen.

1. 1.2-Dimethyl-4.5-dinitrobenzol wird mit d-Ribamin (aus d-Riboseoxim durch Reduktion) in Alkohol unter Austritt einer Nitrogruppe kondensiert. Die Reduktion der erhaltenen Nitrobase erfolgt katalytisch mit Palladium-Wasserstoff oder mit Eisessig-Zinkstaub[11]). Ausbeute, auf Ribose bezogen, 4,5%:

$H_3C$, $NO_2$, $H_3C$, $NO_2$ + $H_2N-CH_2-(CHOH)_3-CH_2OH$ (d-Ribamin) ⟶

$H_3C$, $NH-CH_2-(CHOH)_3-CH_2OH$, $H_3C$, $NO_2$ —Reduktion⟶

$H_3C$, $NH-CH_2-(CHOH)_3-CH_2OH$, $H_3C$, $NH_2$

[11]) R. Kuhn u. F. Weygand, Ber. 67, 1939, 2084 (1934); 68, 166, 1282 (1935).

2. 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-aminobenzol wird mit d-Ribose zum o-Nitranilin-ribosid kondensiert, worauf mit Palladium-Wasserstoff reduziert wird. Dabei wird die Nitrogruppe in die Aminogruppe und der Riboserest in den Ribitylrest umgewandelt[12]). Ausbeute auf Ribose bezogen: 16%.

$H_3C$, $NH_2$, $NO_2$, $H_3C$ (Benzolring) + $O{=}C(H){-}(CHOH)_3{-}CH_2OH$ (d-Ribose) ⟶

$H_3C$, $H_3C$, $NO_2$, $NH{-}CH{-}(CHOH)_3{-}CH_2$ (Ringschluss über O) —Reduktion⟶

$H_3C$, $H_3C$, $NH_2$, $NH{-}CH_2{-}(CHOH)_3{-}CH_2OH$

3. d-Ribose wird mit der freien Aminogruppe des 1.2-Dimethyl-4.5-diamino-benzols, dessen andere Aminogruppe durch Bildung des Urethans geschützt ist, unter Reduktion kondensiert. Die geschützte Aminogruppe wird durch Verseifen zurückgebildet[13]). Ausbeute auf Ribose bezogen: 15%.

$H_3C$, $H_3C$, $NH_2$, $NH.C({=}O)OC_2H_5$ (Benzolring) + $O{=}C(H){-}(CHOH)_3{-}CH_2OH$

---

[12]) R. Kuhn, F. Weygand, K. Reinemund und R. Ströbele, Ber. 68, 1765 (1935).

[13]) P. Karrer und Mitarb., Helv. chim acta 18, 69, 426, 908, 1143, 1343 (1935); Ber. 68, 216 (1935).

$$\xrightarrow{\text{Reduz. Kondens.}} (CH_3)_2C_6H_2(NH{-}CH_2{-}(CHOH)_3{-}CH_2OH)(NH.C(=O)OC_2H_5) \longrightarrow$$

$$\xrightarrow{\text{Verseifung}} (CH_3)_2C_6H_2(NH{-}CH_2{-}(CHOH)_4{-}CH_2OH)(NH_2)$$

4. 1.2-Dimethyl-4-aminobenzol wird mit d-Ribose reduzierend kondensiert. Das erhaltene Kondensationsprodukt wird hierauf in saurer Lösung mit einem Diazoniumsalz, z. B. Diazobenzolsulfat, gekuppelt und der gebildete Azofarbstoff mit Natriumhyposulfit reduziert[14]). Ausbeute auf Ribose 38%:

$$(H_3C)_2C_6H_3{-}NH_2 + H{-}C(=O){-}(CHOH)_3{-}CH_2OH$$

$$\xrightarrow{\text{Reduz. Kondens.}} (H_3C)_2C_6H_3{-}NH{-}CH_2{-}(CHOH)_3{-}CH_2OH$$

$$\xrightarrow{\text{Kuppelung}} (H_3C)_2C_6H_2(NH{-}CH_2{-}(CHOH)_3{-}CH_2OH)(N{=}N{-}C_6H_4{-}NO_2)$$

$$\xrightarrow{\text{Reduktion}} (H_3C)_2C_6H_2(NH{-}CH_2{-}(CHOH)_3{-}CH_2OH)(NH_2)$$

[14]) P. Karrer und H. Fr. Meerwein, Helv. chim. acta **18**, 1130 (1935); **19**, 264 (1936).

d-Ribose wird aus d-Arabinose über d-Acetobrom-arabinose → Diacetyl-arabinal → d-Arabinal und Oxydation des letzteren mit Benzopersäure hergestellt. Die d-Arabinose selbst kann leicht aus Glucose über Gluconsäure gewonnen werden*). d-Ribose kann auch aus Hefe und zwar aus den Hefenucleinsäuren gewonnen werden[15]).

Konstitution und Vitaminwirkung: Das Fehlen von Vitamin $B_2$ (Lactoflavin) in der Nahrung bewirkt bei jungen Ratten Wachstumsstörungen, die von Hauterscheinungen begleitet sind. Letztere sind jedoch verschieden von den durch die Pellagra verursachten Hautschädigungen. Für den Menschen ist eine entsprechende Wirkung noch nicht mit Sicherheit erwiesen. Dagegen ist das Lactoflavin als Wirkgruppe des gelben Ferments auch für den Menschen unentbehrlich.

Als $B_2$-Einheit gilt diejenige Menge, die bei der Ratte eine Gewichtszunahme von 10 g in der Woche, mindestens aber durch 2 bis 4 Wochen lang, bewirkt. Diese Einheit beträgt etwa 8—10 $\gamma$ Lactoflavin.

Aus der Formel des Lactoflavins geht hervor, daß es drei asymmetrische Kohlenstoffatome besitzt, die alle in der Seitenkette liegen. Es sind demzufolge 4 Paare optischer Isomere möglich. Sie leiten sich von den 4 Pentosen: Ribose, Arabinose, Xylose und Lyxose ab. Die Verbindung der d-Ribose entspricht dem natürlichen Lactoflavin. Die synthetischen Methoden gestatten die Darstellung der anderen Isomeren, sowie die Synthese von Flavinen mit längerer oder kürzerer Seitenkette, von Flavinen mit anderen oder in anderen Stellungen befindlichen Substituenten im Benzolkern usw. Diese künstlichen Isomeren und Homologen des Lactoflavins besitzen zum Teil eine physiologische Wirkung, die aber immer schwächer ist als die des Lactoflavins. Zum anderen Teil sind sie überhaupt unwirksam. Durch die Synthesen konnten die für die Vitaminwirkung bzw. Wirkstoffwirkung im gelben Ferment maßgebenden Atomgruppen des Moleküls ermittelt werden. Auf das gelbe Ferment wird später eingegangen (Seite 204).

1. Zur Vitaminwirkung ist mindestens eine der beiden kernständigen Methylgruppen notwendig. 6- und 7-Methyl-9-d-ribo-flavin wirken noch als Vitamin, 9-d-Riboflavin, bei welchem diese Methylgruppen fehlen, hingegen nicht mehr.

2. Die beiden 6- und 7ständigen Methylgruppen können unter Erhaltung der physiologischen Wirksamkeit durch einen Tri- und Tetramethylenring ersetzt werden. Ebenso kann eine der beiden Methylgruppen durch eine Äthylgruppe ersetzt werden.

*) Vorschrift 200.

[15]) H. Bredereck, Ber. 71, 408 (1938).

3. Die Einführung einer neuen $CH_3$-Gruppe in 5- oder 8-Stellung vernichtet die biologische Wirkung vollkommen.

4. Die NH-Gruppe 3 muß frei sein, da 3-Methyl-lactoflavin unwirksam ist.

5. Der Zuckerrest muß als Alkohol vorliegen, da das 6.7-Dimethyl-9-d-ribosido-flavin unwirksam ist.

6. Die Pentitkette wirkt sehr spezifisch. Von den anderen synthetisch dargestellten Polyoxy-alkyl-flavinen ist nur noch das 6.7-Dimethyl-9-l-arabo-flavin wirksam. Die optischen Antipoden zu den beiden physiologisch wirksamen Vitaminen sind ebenfalls unwirksam.

7. Das Tetraacetat des Lactoflavins ist wirksam. Die Veresterung der alkoholischen Hydroxyle beeinträchtigt die Wirkung nicht, wenn sich die Ester leicht wieder verseifen lassen.

In der folgenden Tabelle 22 sind die wichtigsten Isomeren und Homologen des Lactoflavins mit ihren Eigenschaften zusammengestellt. Einige Formelbilder solcher Isomeren finden sich anschließend an die

Tabelle 22

| Bezeichnung | Wirksamkeit $\gamma$ | Schmp. ° | $[\alpha]_D$ |
|---|---|---|---|
| 6.7-Dimethyl-9-d-ribo-flavin | 10 | 292—293 | —115° (n/10 NaOH) |
| 6.7-Dimethyl-9-l-ribo-flavin | — | 280 | — |
| 6.7-Dimethyl-9-d-arabo-flavin | — | 302—305 | — |
| 6.7-Dimethyl-9-l-arabo-flavin | 15 | 298 | + 367° (Borax) |
| 6.7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin | ? | 278—80 | — 82,2° (0,05-n NaOH) |
| 6.7-Dimethyl-9-d-lyxo-flavin | — | 280—82 | + 60° |
| 6.7-Dimethyl-9-l-rhamno-flavin | — | 269—70 | — 52° |
| 6.7-Dimethyl-9-d-sorbo-flavin | — | 272 | — 47,7° |
| 6.7-Dimethyl-9-d-desoxyribo-flavin | — | 283 | — 78° |
| 6.7-Dimethyl-9-allyl-flavin | — | — | — |
| 6.7-Dimethyl-9-n-amyl-flavin | — | 295—300 | — |
| 6.8-Dimethyl-9-hydroxyäthyl-flavin | — | 268 | — |
| 5.7-Dimethyl-9-l-arabo-flavin | — | — | — |
| 6-Äthyl-7-methyl-9-d-ribo-flavin | 10 | 238 | — |
| 5.6-Benzo-9-d-ribo-flavin | — | 290 | — |
| 7-Äthyl-9-d-ribo-flavin | schwach | 220 | — |
| 7-Methyl-9-d-ribo-flavin | wirksam | 285 | — |
| 6-Methyl-9-d-ribo-flavin | 10—20 | 282 | — 84° (0,05-NaOH) |
| 7-Methyl-9-l-arabo-flavin | schwach | 284—285 | — |
| 7-Methyl-9-d-xylo-flavin | — | 268 | — |
| 7-Methyl-9-d-manno-flavin | — | 272 | — |
| 3-Methyl-lactoflavin | — | 272 | — |
| 6.7-Trimethylen-9-l-arabo-flavin | 20 | — | — |
| 6.7-Tetramethylen-9-l-arabo-flavin | 20 | — | — |
| 1-Arabo-flavin | — | 292 | — 4° (Wasser) |
| 9-d-Ribo-flavin | — | 283 | — |

Tabelle, ohne daß darin die sterischen Unterschiede zwischen Ribose und Arabinose besonders gekennzeichnet sind.

Eigenschaften: Lactoflavin wird aus Alkohol und Essigsäure in schönen orangegelben Nädelchen, die zu Büscheln vereinigt sind, erhalten. Die Krystalle schmelzen bei 292—293° unter Zersetzung. Die Bruttoformel ist $C_{17}H_{20}O_6N_4$. In neutraler oder saurer Lösung zeigt Lactoflavin keine meßbare spezifische Drehung. In alkalischem Medium ist die Drehung stark von der Konzentration abhängig. $[\alpha]_D$ in n/10 NaOH beträgt —115°, in n/20 NaOH = —125°. Erhöhung der Alkalität vermindert das Drehungsvermögen. Anwesenheit von Natriumborat ändert das Drehungsvermögen sehr stark: $[\alpha]_D$ in n/20, halb mit Borax gesättigter NaOH = + 350°[16]).

Lactoflavin ist in Wasser mäßig löslich. Eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung enthält 0,025% Lactoflavin. Unreine Präparate sind in Wasser besser löslich. In Alkohol ist die Löslichkeit noch geringer, als in Wasser. In Äther, Aceton, Benzol, Benzin und Chloroform ist Lactoflavin vollkommen unlöslich. Der Geschmack der Lösungen ist intensiv bitter.

Die grüngelb gefärbte, neutrale wäßrige Lösung zeigt intensiv gelbgrüne Fluoreszenz, die auf Zusatz von Alkalien oder Mineralsäuren verschwindet. Diese starke Grünfluoreszenz kommt nur dem elektrisch neutralen Molekül bzw. dem Zwitterion zu, Kation und Anion fluoreszieren nicht; das pH-Optimum liegt zwischen 3 und 9. Bei pH = 1,7 und pH = 10,2 verringert sich die Intensität der Fluoreszenz um die Hälfte[17]). Die Dissoziationskonstanten betragen: $K_a = 63.10^{-12}$; $K_b = 0{,}5.10^{-2}$; $p_{K_a} = 10{,}2$; $p_{K_b} = 1{,}7$. Sie ergeben sich aus der pH-Fluoreszenz-Kurve. Der isoelektrische Punkt liegt bei pH = 6,0[17]).

Lactoflavin besitzt ein charakteristisches Absorptionsspektrum, dessen Maxima bei 445, 370, 270 und 225 m$\mu$ liegen. Diese Kurven ergeben, von geringen Verschiebungen abgesehen, fast alle Flavine. Einen gewissen Einfluß auf die Absorption haben besonders die im Benzolkern haftenden Methylgruppen. In der Bindung an den hochmolekularen Träger ist die Absorption nach dem Langwelligen verschoben (Gelbes Ferment). Der molare Absorptionskoeffizient K beträgt $30.10^3$ (445 m$\mu$).

[16]) R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg, Ber. 67, 1770 (1934); R. Kuhn und H. Rudy, Ber. 68, 169 (1935).

[17]) R. Kuhn und G. Moruzzi, Ber. 67, 888 (1934).

6.7-Dimethyl-9-l-arabo-flavin

6.7-Dimethyl-9-n-amyl-flavin

5.7-Dimethyl-9-l-arabo-flavin

6-Äthyl-7-methyl-9-d-ribo-flavin

6-Methyl-9-d-ribo-flavin

9-d-Ribo-flavin

8-Methyl-lacto-flavin

6.7-Trimethylen-9-d-ribo-flavin

6.7-Tetramethylen-9-d-ribo-flavin

Das **Oxydations-Reduktionspotential** beträgt bei pH = 7 und 20° —0,185 Volt, ist also stark negativ[18]). Bei pH = 5,9 beträgt es —0,146 Volt.

Lactoflavin ist in neutraler und saurer Lösung **hitzebeständig**. Auch gegen **Oxydationsmittel** (Brom, Salpetersäure, Salpetrige

---

18) R. Kuhn und G. Moruzzi, Ber. 67, 1220 (1934).

Säure, Wasserstoffsuperoxyd) ist es außerordentlich beständig. Stärkere Säuren zerstören selbst in der Wärme kaum.

Durch Alkalien wird Lactoflavin, besonders in der Wärme, rasch zerstört. Dabei wird die Farbe aufgehellt. Eine wäßrige Lösung von pH = 8,7 verliert nach einstündigem Erhitzen auf 100° die Hälfte der physiologischen Wirksamkeit.

Bei der Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin entsteht ein Lactoflavin-tetracetat vom Schmp. 243°, das in Chloroform gut löslich ist und von kalter, verdünnter Natronlauge sehr rasch verseift wird. Lactoflavin läßt sich mit 1000 Gewichtsteilen trockenem Aceton, das 1% Salzsäure enthält, durch 12stündiges Schütteln in ein Di-aceton-lactoflavin $C_{23}H_{28}O_6N_4$ umwandeln. Das Reaktionsprodukt wird neutralisiert, der größte Teil des Acetons im Vakuum verdampft, der Rückstand mit Wasser verdünnt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Entfernung des Chloroforms wird aus wäßrigem Alkohol umkrystallisiert. Das Verfahren ist durch das DRP. 632131 geschützt. Das Acetonderivat löst sich sehr gut in Lipoidlösungsmitteln und kann deshalb mit anderen fettlöslichen Vitaminen (A, D und E) zusammen therapeutisch verwendet werden. Es wird durch die Magensäure leicht wieder in die Komponenten gespalten[19]).

Lactoflavin wird durch Reduktionsmittel (Natriumhyposulfit, katalytisch erregter Wasserstoff, Zinkstaub) in eine Leukoform umgewandelt, die bereits durch Luftsauerstoff wieder oxydiert wird. Dabei wird eine Monohydrostufe (Chloro-flavin) von Radikalcharakter durchlaufen. Leukoflavin ist farblos[20]). Bei der Einwirkung von Zink, Zinn, Natriumamalgam u.a. in mineralsaurer Lösung tritt die rote Zwischenstufe der Reduktion auf. Sie ist sehr unbeständig: Schon beim Abstumpfen der Säure mit Natriumacetat kehrt, unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs, die grüngelbe Farbe des Lactoflavins wieder.

Lactoflavin wird durch Phosphorwolframsäure in n/1-schwefelsaurer Lösung gefällt; Silbernitrat und Bleiacetat fällen es in neutraler Lösung. Silbernitrat und Mercurinitrat fällen es nicht in saurer Lösung. Von Pikrinsäure wird Lactoflavin nicht gefällt.

Fullererde in n/1-mineralsaurer Lösung und vor allem Frankonit in neutraler Lösung sind vorzügliche Adsorptionsmittel für Lactoflavin. Zur Elution wird ein Pyridin-Alkohol-Wasser-Gemisch verwendet. Zur Adsorption ist Tierkohle ebenfalls gut geeignet. Ungeeignet sind Aluminiumoxyd, Calciumcarbonat, Kieselgur und Fasertonerde.

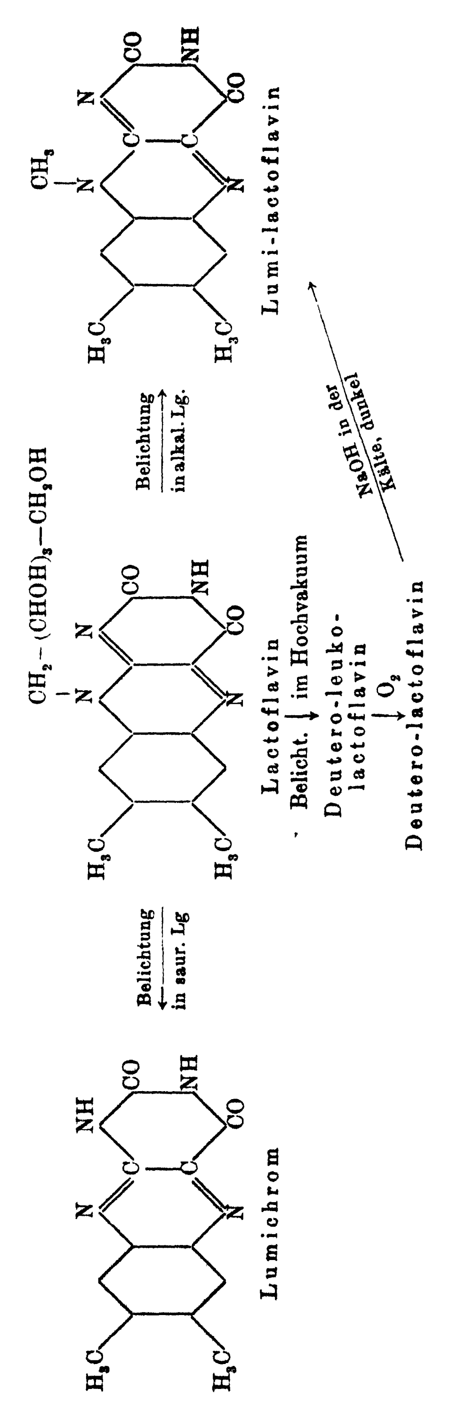
[19]) R. Kuhn und H. Rudy, C. **1936** II, 2569.
[20]) R. Kuhn und R. Ströbele, Ber. **70**, 753 (1937).

Talk adsorbiert nur aus reinen Lösungen. In wäßriger Lösung gefälltes Bleisulfid adsorbiert alles Lactoflavin. Es kann durch kochendes Wasser wieder vom Sulfid eluiert werden.

Gewöhnliches Licht, besonders Ultraviolettbestrahlung, zerstört das Lactoflavin irreversibel. Dabei bleicht der Farbstoff aus. Die Belichtung ergibt, je nach den Bedingungen der Lösung, verschiedene Produkte. In alkalischer Lösung bildet sich das schon genannte Lumiflavin $C_{13}H_{12}O_2N_4$. Es entsteht durch Abspaltung der hydroxylreichen Seitenkette. Das Lumiflavin läßt sich aus der wäßrigen Lösung mit Chloroform ausschütteln. In Farbe und Spektrum ist es dem Lactoflavin außerordentlich ähnlich.

In saurer Lösung wird durch die Bestrahlung die gesamte Seitenkette abgespalten, gleichzeitig tritt durch Wanderung eines Wasserstoffatoms Umlagerung des Iso-alloxazins zum Alloxazin ein. Es entsteht Lumichrom (6.7-Dimethyl-alloxazin).

Belichtet man reines Lactoflavin in Wasser gelöst unter Ausschluß von Luft (im Hochvakuum), dann hellt die gelbe Farbe stark auf und die grüne Fluoreszenz verschwindet. Beim Schütteln mit Luft kehrt die ursprüngliche Färbung und Fluoreszenz wieder. Dabei wird aber kein Lactoflavin zurückgebildet, sondern der neue Körper Deutero-lactoflavin unterscheidet sich vom Lactoflavin dadurch, daß er durch Einwirkung von verdünnter Natronlauge



schon im Dunkeln in Lumi-lactoflavin umgewandelt wird. Als direktes Produkt der Belichtung im Hochvakuum wird ein Deutero-leuko-lactoflavin gebildet[21]).

Nachweis des Lactoflavins*): Zur Bestimmung des Lactoflavins kann die direkte Messung der Fluoreszenz dienen. Man verwendet dazu die Aceton-Extrakte, denen durch Entmischen mit Petroläther die lipoidlöslichen Anteile entzogen worden sind. Fluoreszierende Begleitstoffe können zu hohe Werte vortäuschen. Die nach dieser Methode ermittelten Werte stimmen immerhin annähernd mit den durch physiologische Versuche ermittelten Werten überein[22]).

Besser ist es, die Flavine in Lumiflavin überzuführen. Man belichtet in schwach alkalischer Lösung unter Kühlung mit einer starken elektrischen Birne, schüttelt das entstandene Lumilactoflavin mit Chloroform aus (in saurer Lösung) und bestimmt die Extinktion am Stufenphotometer[23]). Der Berechnung sind folgende Zahlen zugrunde zu legen: 0,1 mg Lumilactoflavin in 1 ccm Chloroform, $\varepsilon$ (470) = 4,75; $\varepsilon$ (450) = 5,65. Sind nur geringe Mengen Lactoflavin vorhanden, können die erhaltenen Werte bis um 50% zu niedrig liegen. Bei größeren Mengen dürften die Abweichungen bei etwa 20% liegen.

### Darstellung von Lactoflavin

1. Kuhmilch enthält Lactoflavin als solches und stellt daher mit die beste natürliche Quelle dar. Zur Darstellung verfährt man folgendermaßen[24]):

300 Liter Labmolke aus frischer Kuhmilch werden mit 24,6 Liter konz. Salzsäure versetzt (auf n-HCl). Hierauf werden unter fortwährendem Rühren 2,4 kg Fullererde zugesetzt und $1^1/_2$ Stunden weitergerührt. Die Adsorption ist dann beendet. Man läßt absitzen und hebert die überstehende Flüssigkeit ab. Das Adsorbat wird solange mit destilliertem Wasser gewaschen, bis sich mit Silbernitrat kein Chlor mehr nachweisen läßt. Zur Elution wird $1^1/_2$ Stunden mit einer Mischung von 2,7 Liter Pyridin, 2,7 Liter Methanol und 10,8 Liter destilliertem Wasser gerührt.

---

[21]) R. Kuhn, H. Rudy und Th. Wagner-Jauregg, Ber. **66**, 1950 (1933).

*) Siehe F. Gstirner, l. c.

[22]) H. v. Euler und E. Adler, Z. physiol. Chem. **223**, 105 (1934).

[23]) O. Warburg und W. Christian, Biochem. Z. **266**, 377 (1933); R. Kuhn und Mitarb., Ber. **67**, 1452 (1934).

[24]) R. Kuhn, H. Rudy und Th. Wagner-Jauregg, Ber. **66**, 1950 (1933).

Man zentrifugiert, engt die Flüssigkeit im Vakuum auf ein kleines Volumen ein und bringt kolloidal gelöste Fullererde durch Zusatz des gleichen oder doppelten Volumens Methanol zur Ausflockung. Die abzentrifugierte Farbstofflösung wird im Vakuum vom Methanol befreit und der Rückstand wiederholt mit Äther ausgeschüttelt. Man versetzt hierauf mit dem 10fachen Volumen Aceton und läßt über Nacht stehen. Nach dem Filtrieren wird im Vakuum auf 350 ccm eingeengt.

Aus dieser Lösung wird der Farbstoff durch $^3/_4$stündiges Rühren mit Frankonit KL bei neutraler Reaktion adsorbiert. Das Adsorbat wird mehrmals mit Wasser gewaschen. Es wird dann mit einem Gemisch von 75 ccm Pyridin, 200 ccm Methanol und 100 ccm Wasser eluiert. Diese Elution wird nach der Trennung vom Frankonit im Vakuum (15 mm) auf 75 ccm eingeengt, mit 2 ccm Eisessig und 1 Liter Aceton versetzt und nach dem Abzentrifugieren des ausfallenden Niederschlags erneut im Vakuum auf 8 ccm eingeengt. Die dabei auftretenden, farblosen Niederschläge müssen jedesmal rasch abzentrifugiert werden. Die klare, konzentrierte Lösung, die nun außer Lactoflavin nur noch Kreatinin und einige andere Begleitstoffe enthält, wird mit gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt, wobei das Kreatinin und die anderen Begleitstoffe ausgefällt werden. Die überschüssige Pikrinsäure wird durch Ausschütteln mit Äther im Dunkeln entfernt. Beim Einengen der ausgeätherten Lösung im Vakuum scheidet sich das Lactoflavin in Krystallen ab. Zur Reinigung wird 3mal aus kochender 2-n-Essigsäure umkrystallisiert. Ausbeute: 2 mg reines Lactoflavin aus 100 Liter Molke.

Die Verwendung des Pyridin-Methanol-Wasser-Gemisches zur Elution ist durch das D R P. 607 512 geschützt. Nach dem D R P. 634 969 kann auch ein Ammoniak-Alkohol-Wasser-Gemisch verwendet werden.

Ist das Ausgangsmaterial M o l k e n p u l v e r, so wird dieses mit der doppelten Menge 95proz. Alkohol unter stetem Rühren im Stickstoff-Strom extrahiert. Dieser Vorgang wird wiederholt und die vereinigten Alkoholextrakte abgekühlt. Die ausfallende Lactose wird abfiltriert und das Filtrat im Vakuum (40—50°) auf ein geringes Volumen eingeengt. Der Rest wird im Exsiccator zur Trockne gebracht. Dieser Rückstand wird in Wasser gelöst und mit Salzsäure auf n-HCl gebracht. Es wird an Fullererde in der oben beschriebenen Weise adsorbiert und weiterbehandelt.

2. Aus H e f e kann man Lactoflavin nach demselben Verfahren erhalten. Es wird aus angesäuertem H e f e k o c h s a f t adsorbiert. Zur Zerstörung des Vitamins $B_1$ wird im Autoklaven 6 Stunden erhitzt, wobei allerdings 50% des Lactoflavins ebenfalls zerstört werden.

## Die Synthese des Lactoflavins

A: Aufbau der Ribose-Komponente: 100 g feingepulverte d-Arabinose werden in einem genügend großen Gefäß mit 500 g Essigsäureanhydrid übergossen. Unter Kühlung wird ein kräftiger Strom von Bromwasserstoff eingeleitet. Nach 2 Stunden ist der Zucker in Lösung gegangen. Es wird hierauf noch $^3/_4$ Stunden lang Bromwasserstoff eingeleitet, bis die Lösung gesättigt ist, worauf die Lösung mit eisgekühltem Chloroform ausgeschüttelt wird. Die Chloroformlösung wird hierauf zweimal mit je 500 ccm Eiswasser ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wird mit Natriumbicarbonatlösung von der Essigsäure befreit und das Chloroform mit Wasser gewaschen und über Chlorcalcium getrocknet. Das Chloroform wird im Vakuum verjagt, bis eben die Krystallisation beginnt. Es wird mit trockenem Äther versetzt und unter Kühlung der Krystallisation überlassen. Ausbeute an Acetobrom-arabinose: 105 g.

Die gesamte Acetobrom-arabinose wird in gekühlter, 50proz. Essigsäure mit verkupfertem Zinkstaub auf der Schüttelmaschine in kleinen Portionen 3—4 Stunden geschüttelt. Nach Zusatz von Wasser wird mit Chloroform extrahiert, das Chloroform mit Natriumbicarbonat von der Essigsäure befreit, mit Wasser gewaschen und mit Na-Sulfat getrocknet. Das Chloroform wird im Vakuum im Stickstoffstrom unter Zusatz von etwas Hydrochinon abgedampft. Das übrigbleibende, gelbe Öl wird im Hochvakuum destilliert. Ausbeute an Diacetyl-arabinal: 33 g.

Das Diacetyl-arabinal wird sofort weiterverarbeitet. Es wird in eisgekühlter Bariumhydroxydlösung gelöst und das überschüssige $Ba(OH)_2$ mit Kohlendioxyd gefällt. Die Lösung wird zur Zersetzung des Bicarbonats eine halbe Stunde auf 70° erwärmt, worauf abzentrifugiert wird. Die wäßrige Lösung wird bei 60° konzentriert, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiert und die alkoholische Lösung konzentriert. Das sich dabei ausscheidende Bariumacetat wird abfiltriert. Ausbeute an d-Arabinal: 31 g.

d-Arabinal wird in der 10fachen Menge Wasser gelöst und unter heftigem Rühren werden Tropfen für Tropfen einer Essigesterlösung von Benzopersäure zugesetzt. Dabei ist gut zu kühlen. Der Überschuß an Benzopersäure soll 20% betragen. Es werden für 25 g Arabinal 50 g Benzopersäure in 600 ccm Essigester benötigt. Nach 5—6 Stunden wird die Essigesterschicht abgehoben, zweimal mit Wasser gewaschen und die gesammelten wäßrigen Lösungen mit Chloroform zur Entfernung der Reste Benzoe- und Benzopersäure extrahiert. Die wäßrige Lösung wird

hierauf im Vakuum bei 60—70° zum Syrup eingeengt. Man kann mit einem Krystall d-Ribose impfen.

Die so dargestellte d-Ribose kann direkt zur Kondensation verwendet werden. Zur Überführung in d-Ribamin wird wie folgt verfahren:

6 g d-Ribose werden in kleinen Anteilen in eine Lösung von 2 g freiem Hydroxylamin in 70 ccm absolutem Alkohol von 75° eingetragen. Beim Stehen über Nacht scheidet sich das Oxim in einer Ausbeute von 4,7 g aus. 5 g des Oxims werden in 100 ccm Wasser gelöst und mit 300 g 3proz. Natriumamalgam reduziert. Die Temperatur wird durch Einwerfen kleiner Eisstückchen auf 20—25° gehalten. Die Reaktion der Lösung soll eben lackmussauer sein und wird durch Zutropfen von verdünnter Schwefelsäure gehalten. Das Ribamin wird als Oxalat aus der Lösung abgeschieden.

B. 1.2-Dimethyl-4-amino-5-d-1'-ribityl-aminobenzol:

a) Zu 28,5 ccm o-Xylol läßt man unter kräftigem Schütteln langsam eine auf 0° abgekühlte Mischung von 100 ccm rauchender Salpetersäure (d = 1,52) und 50 ccm Eisessig zufließen, wobei die Temperatur zwischen — 5 und 0° gehalten wird. Das Gemisch wird in Wasser gegossen, zweimal ausgeäthert, der Äther mit Wasser und Natronlauge gewaschen und nach dem Verjagen des Äthers das Öl im Vakuum fraktioniert destilliert. Die bei 137—160° übergehende Hauptfraktion (10 mm) krystallisiert beim Ausfrieren. Es wird zweimal aus reinem Alkohol umkrystallisiert. Die Ausbeute an 1.2-Dimethyl-4-nitrobenzol beträgt 7 g.

15 g Nitroxylol werden in 80 g konz. Schwefelsäure gelöst und bei Zimmertemperatur nach und nach mit einem Gemisch von 10 g 65proz. Salpetersäure und 20 g konz. Schwefelsäure nitriert. Man erwärmt anschließend noch 10 Minuten auf dem Wasserbad und gießt das erkaltete Gemisch in 1 Liter Wasser. Nach dem Filtrieren und Trocknen wird aus reiner, konz. Schwefelsäure umkrystallisiert, wobei das reine 4.5-Dinitro-1.2-dimethyl-benzol erhalten wird.

0,8 g dieses Körpers und 1,2 g öliges d-Ribamin werden mit 15 ccm 80proz. wäßrigem Alkohol 6 Stunden auf 130° erhitzt. Nach dem Erkalten wird im Vakuum vom Alkohol befreit und eingeengt. Man erhält 0,65 g 1.2-Dimethyl-4-nitrophenyl-ribamin(5). Diese Menge wird in 75 ccm 80proz. wäßrigem Alkohol mit 0,2 g Platinmohr und Wasserstoff geschüttelt. Nach 20 Minuten ist die berechnete Menge

von 3 Mol. Wasserstoff aufgenommen, worauf vom Katalysator filtriert wird. Im Vakuum vom Lösungsmittel befreit, kommt das erhaltene 1.2-Dimethyl-4-amino-5-ribityl-aminobenzol sofort zur Kondensation mit Alloxan (siehe weiter unten; Formulierung oben S. 188).

b) Das unter a) dargestellte Dinitro-xylol wird mit alkoholischem Ammoniak auf 150° erhitzt, wobei es sich quantitativ in Nitro-xylidin umwandelt. 13 g dieses Nitroxylidins, 2,6 g d-Ribose und 0,3 g Ammoniumchlorid werden in 50 ccm absolutem Alkohol im siedenden Wasserbade 1½ Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Auskühlen wird vom ausgefallenen Nitroxylidin abgesaugt und mit kaltem Alkohol nachgewaschen. Hierauf wird bei Zimmertemperatur durch eine 20 cm lange und 5 cm breite Säule von Aluminiumoxyd filtriert. Das Kondensationsprodukt wird dabei in der oberen Zone der Säule adsorbiert, während das unveränderte Nitroxylidin durch Benzol quantitativ ausgewaschen wird. Das Ribosid wird mit einem Gemisch von 1 Teil Pyridin, 2 Teilen Methanol und 1 Teil Wasser eluiert und die Lösung zur Trockne verdampft. Ausbeute 4 g. Das Verfahren ist durch das Engl. Pat. 461 245 geschützt.

2 g des Ribosids werden in 400 ccm 80proz. Alkohol in der Wärme gelöst, abgekühlt und mit 17 ccm einer 0,4-n-$NaH_2BO_3$-Lösung versetzt. Man gibt 5 g Palladiumhydroxyd (an $CaCO_3$) zu und hydriert bei einem Wasserstoffdruck von 25 Atm. zuerst eine Stunde bei 20°, dann unter langsamem Steigern der Temperatur 6 Stunden bei 80°. Nach dem Abkühlen wird vom Katalysator abzentrifugiert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Das erhaltene Dimethyl-amino-ribityl-aminobenzol wird sofort zur Kondensation mit Alloxan verwendet (siehe weiter unten).

c) 10 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-anilin(5) werden in 400—500 ccm Benzol gelöst und langsam in 100 g einer 20proz. Lösung von Phosgen in Toluol eingetragen. Man gibt hierauf nochmals 100 g einer gleichen Phosgenlösung zu und erhitzt eine halbe Stunde am Rückfluß. Wenn nicht alles in Lösung geht, gibt man nochmals 20 g der Phosgenlösung zu und erhitzt weiter. Das Phosgen und das Lösungsmittel werden im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit Benzin ausgekocht. Beim Erkalten krystallisiert das 1.2-Dimethyl-4-nitro-phenyl-5-isocyanat in einer Ausbeute von 9,5 g aus.

9 g des Isocyanats werden in 25 ccm absolutem Alkohol unter Erwärmen eingetragen, worauf man noch 15 Minuten am Wasserbade erhitzt. Beim Erkalten scheidet sich das Nitrourethan in einer Menge

von 11 g aus. Das Urethan wird in alkoholischer Lösung bei Gegenwart von Platin mit Wasserstoff reduziert. Das erhaltene Amino-urethan wird aus siedendem Wasser umkrystallisiert. Man erhält aus 7 g Nitro-urethan etwa 4,2 g Amino-urethan (Formulierung S. 189, 3).

Zu 5 g trockener, in 40 ccm trockenem Methanol gelöster d-Ribose gibt man 7 g des trockenen Amino-urethans. Man kocht 3 Stunden, verdünnt mit 90 ccm Methanol und hydriert dann mit 2 g Nickel unter Schütteln bei 25 Atm. Wasserstoffdruck und 100° durch 4 Stunden. Man filtriert vom Katalysator ab und engt im Vakuum auf 20 ccm ein. Das beim Erkalten ausfallende Dimethyl-carbäthoxy-amino-phenyl-ribamin wird aus Wasser umkrystallisiert. Ausbeute 9 g.

Zur Verseifung wird in kochendem Wasser gelöst, abgekühlt und mit soviel konz. Kalilauge versetzt, bis sie 2-n geworden ist. Dann wird während 2 Stunden bei 70° verseift. Die gut gekühlte Lösung wird nun mit konz. Salzsäure vorsichtig angesäuert und wird nach dem Eindampfen im Vakuum sofort mit Alloxan (siehe weiter unten) zur Kondensation gebracht.

c) 30 g 1.2-Dimethyl-anilin(5) (aus Dimethylnitrobenzol in Alkohol und Reduktion mit Platin-Wasserstoff) werden in 75 ccm Aceton gelöst und 45 ccm Wasser zugegeben. Nach Zusatz einer Lösung von 10,5 g NaOH in 30 ccm Wasser werden unter gutem Rühren 30 g Chlorkohlensäureäthylester zugetropft. Das Aceton wird im Vakuum bei 20° verjagt und der Rückstand ausgeäthert. Nach dem Abdampfen des Äthers verbleiben 45 g rohes Dimethyl-phenyl-urethan. 45 g dieses Körpers werden bei — 5° mit einer Mischung von 45 ccm konz. Schwefelsäure und 125 ccm konz. Salpetersäure nitriert, indem man das Urethan unter kräftigem Rühren zutropfen läßt. Nach beendeter Reaktion läßt man in Eiswasser fließen, sammelt die halbfeste Masse auf der Nutsche und krystallisiert zweimal aus reinem Alkohol um. Ausbeute an 1.2-Dimethyl-4-nitro-phenyl-urethan(5): 45 g.

Die weitere Behandlung ist die gleiche wie unter c) beschrieben.

d) Man erhitzt 2 g d-Ribose mit 1,6 g 1.2-Dimethylanilin(4) in absolutem Methylalkohol während 3 Stunden. Das Reaktionsprodukt wird sofort in den Autoklaven gebracht und bei 80—100° und 26 Atm. Wasserstoffdruck 4 Stunden reduziert. 2,5 g des erhaltenen Dimethyl-phenyl-ribamins werden in 250 ccm Wasser gelöst, mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert, auf Zimmertemperatur abgekühlt und mit 10% Überschuß an einer Lösung von Phenyldiazoniumsulfat versetzt, bis eben einige Flocken auszufallen beginnen. Nach 20 Stunden Stehen werden die entstandenen dunkelroten Krystalle abgesaugt und mit

50proz. Alkohol gewaschen. Nach dem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol erhält man in einer Ausbeute von 91% der Theorie das 4-(d-Ribitylamino)-1.2-dimethyl-5-azobenzol.

3,25 g der Azoverbindung werden in 250 ccm Alkohol gelöst, zum Sieden erhitzt, 50—70 ccm Wasser zugesetzt und durch Zugabe einer kalt gesättigten Natriumhyposulfitlösung reduziert. Man setzt so viel zu, bis die rotorange Farbe in goldgelb umgeschlagen ist. Man macht mit konz. Salzsäure kongosauer und dampft das Lösungsmittel im Vakuum ab, wobei sich Anilinchlorhydrat krystallin ausscheidet und entfernt werden kann.

C. Kondensation der Komponenten zu Lactoflavin

Folgende Patente schützen diese Kondensation: Belg. Pat. 410197; Dän. Pat. 53323; Engl. Pat. 441692, 457984, 461245; Franz. Pat. 792070; Schwed. Pat. 85995; Schweiz. Pat. 185531, 187937, 187938, 187939, 187940.

Man bereitet sich eine Lösung von gleichen Teilen Alloxantetrahydrat und Borsäure in Eisessig und gießt diese Lösung zu einer Lösung von Dimethyl-amino-ribityl-aminobenzol und etwas Natriumcitrat in Eisessig. Nun erhitzt man 15 Minuten im Dunkeln zum gelinden Sieden. Man verdünnt mit Wasser und verrührt in die fluoreszierende Flüssigkeit Frankonit. Aus dem Adsorbat wird das Lactoflavin mit einem Gemisch von 1 Teil Pyridin, 1 Teil Alkohol und 2 Teilen Wasser eluiert. Das Eluat wird im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst und der Farbstoff an Bleisulfid, das man aus Bleiacetat erzeugt, adsorbiert. Man eluiert mit kochendem Wasser, wiederholt die Adsorption an Bleisulfid, dampft das zweite Eluat ein und krystallisiert aus mit Essigsäure angesäuertem Wasser um.

## Das Gelbe Ferment (Flavinenzym)

Innerhalb des Körpers findet sich das Lactoflavin nur in der Netzhaut des Auges, in der Milch und im Urin in freier Form vor. Überall sonst liegt es, sowohl im tierischen, als auch im pflanzlichen Organismus, an Phosphorsäure und Protein gebunden als Proteid vor. Das bei der Verdauung in seine Komponenten zerlegte Ferment wird in der Darmschleimhaut bereits mit Phosphorsäure verestert und weiter im Organismus wieder in das Gelbe Ferment zurückverwandelt, wobei enzymatische Vorgänge die Synthesen bewirken.

Es gibt mehrere solcher Flavinenzyme. Das bekannteste und die

eigentliche Wirkform des Vitamin $B_2$ darstellende Flavinenzym ist das Gelbe Ferment. Seine biologische Aufgabe und gleichzeitig die wachstumsfördernde Eigenschaft des Lactoflavins besteht darin, daß es als Wasserstoffüberträger bei der biologischen Oxydation der Glucose und gewisser Kohlenhydratabbauprodukte fungiert. Als solche Abbauprodukte kommen in Betracht: Phosphorsäureester der Zucker, Glycerinaldehyd, Äthylalkohol, Milch-, Äpfel- und Zitronensäure. Diese Substrate werden nach Aktivierung durch spezifische Fermente durch die später zu besprechenden Codehydrasen I und II dehydriert, worauf die dabei entstehenden Dihydrocodehydrasen ihren Wasserstoff über die sog. Diaphorase (Coenzymfaktor) an das Gelbe Ferment abgeben. Dessen Leukoform (Dihydroenzym) wird in der Zelle entweder von Cytochrom c (Theorell) oder von Fumarsäure (Szent-Györgyi), aber nicht von Sauerstoff, reoxydiert.

Die genaue Reaktionsfolge ist noch nicht vollkommen geklärt. Das Gelbe Ferment scheint nicht die einzige Wirkform des Lactoflavins im Organismus zu sein. Die Lactoflavin-phosphorsäure kann sich mit verschiedenen Eiweißkörpern verbinden und je nach der Art des Eiweißkörpers als Bestandteil verschiedener Fermente auftreten. In der Milch kommt neben dem freien Lactoflavin ein Flavinenzym vor, dessen Eigenschaften von denen des „Gelben Ferments" in einigen Punkten abweichen. Ein weiteres Flavinenzym soll in der Leber vorkommen. Ein viertes Flavinenzym wurde von Warburg und Christian[1]) in Hefe, Leber- und Nierengewebe gefunden. Es ist eine Verbindung von Lactoflavin-phosphorsäure mit Adenylsäure, an welche locker eine Eiweißkomponente angelagert wird. Solche Flavin-dinucleotid-enzyme sind z. B. die d-Aminosäureoxydase, die Xanthinoxydase und die Glyoxalase (Warburg, Krebs, Bersin, Ball).

Konstitution: Das Gelbe Ferment gehört zu den wenigen Enzymen, über deren Bau man gut unterrichtet ist. Das Ferment läßt sich sehr leicht in zwei Komponenten spalten, von denen eine ein in seiner Konstitution noch unbekanntes Protein[2]), die andere aber Lactoflavinphosphorsäure darstellt. Die Zerlegung (Hydrolyse) erfolgt schon beim Versetzen einer wäßrigen Lösung des Ferments mit organischen Lösungsmitteln (Methylalkohol), aber auch Erhitzen der wäßrigen Lösung genügt bereits zur Hydrolyse. Verdünnte Säuren wirken eben-

[1]) O. Warburg u. W. Christian, Biochem. Z. **254**, 438 (1932); **266**, 379 (1934); **298**, 150, 368 (1938).

[2]) R. Kuhn u. P. Desnuelle, Ber. **70**, 1907 (1937).

falls sehr rasch. Man bezeichnet den Protein-Anteil als Träger, die Lactoflavinphosphorsäure als Wirkungsgruppe.

Manche Biochemiker verwenden hier für die beiden Bestandteile auch die seit langem eingeführten Bezeichnungen „Apoferment" für das Protein und „Coferment" für die abtrennbare Wirkungsgruppe. Der Ausdruck „Wirkungsgruppe" erscheint unverbindlicher und legt für die vielen anderen Cofermente nicht analoge Beziehungen zu den Apofermenten fest, was zunächst noch als eine etwas vorzeitige Verallgemeinerung erscheint.

Die Art der Bindung der Wirkungsgruppe an das Protein ergibt sich aus der Beobachtung der reversiblen Spaltung durch verdünnte Säuren. Wird die Hydrolyse durch n/50 Salzsäure bei 0° vorgenommen, die Lactoflavin-phosphorsäure herausdialysiert und zum Schluß die Salzsäure durch Dialyse entfernt, so erhält man ein nur sehr wenig denaturiertes Protein. Dieses läßt sich durch Zugabe der äquivalenten Menge der Lactoflavin-phosphorsäure wieder zum Gelben Ferment synthetisieren. Mit Lactoflavin allein wird bei Zugabe äquivalenter Mengen kein Ferment resynthetisiert. Auch läßt sich Lactoflavin im Gegensatz zur Lactoflavin-phosphorsäure durch Dialyse bei $p_H = 7$ vollständig entfernen[3]). Die Bindung muß also über den Phosphorsäurerest erfolgen und kann wohl salzartig sein.

Die Tatsache, daß 3-Methyl-lactoflavin-phosphorsäure mit Protein kein Ferment gibt, läßt aber schließen, daß auch die schwach saure NH-Gruppe 3 an der Bindung mit dem Protein beteiligt ist. Diese Annahme wird durch den Vergleich der Absorptionsspektren und der Fluoreszenz der Flavin-phosphorsäure in neutraler und alkalischer Lösung mit der des Gelben Ferments bekräftigt[4]).

Bei der Reduktion des Gelben Ferments zum Leuko-flavinenzym erfolgt die Anlagerung von Wasserstoff an das konjugierte System:

$$\begin{array}{c} \diagdown C{=}N \diagdown \\ | \\ \diagdown N{=}C \diagdown \end{array} \quad \underset{-2\,H}{\overset{+2\,H}{\rightleftharpoons}} \quad \begin{array}{c} \diagdown C - NH \diagdown \\ \| \\ \diagdown NH - C \diagdown \end{array}$$

Die Konstitution der Lactoflavin-phosphorsäure wurde von Kuhn und Rudy[5]) als die einer 6.7-Dimethyl-9-d-ribo-

[3]) H. Theorell, Biochem. Z. 278, 263, 291 (1935).
[4]) R. Kuhn u. H. Rudy, Ber. 69, 2557 (1936).
[5]) R. Kuhn, H. Rudy u. F. Weygand, Ber. 69, 1543 (1936).

flavin-5′-phosphorsäure sichergestellt und durch Synthese bewiesen:

Für das Gelbe Ferment und seine Leukoform kann demnach folgende Konstitution als sicher gelten:

Protein

Gelbes Ferment, Flavinenzym.

Protein

Leuko-flavinenzym

Für die Synthese der Lactoflavin-5′-phosphorsäure wurde folgender Weg eingeschlagen[5]): Lactoflavin wird mit Tritylchlorid in 5′-Trityl-lactoflavin überführt und durch Acetylierung in 2′.3′.4′-Triacetyl-5′-trityl-lactoflavin verwandelt. Die Abspaltung des Tritylrestes durch verdünnte Säure ergab 2′.3′.4′-Triacetyl-lactoflavin, das mit $POCl_3$ in Pyridin zur 2′.3′.4′-Triacetyl-lactoflavin-5′-phosphor-

säure führte, die mit verdünnter Lauge den freien Phosphorsäureester ergab.

Die freie Lactoflavin-phosphorsäure ist in Wasser leichter löslich als das Lactoflavin. In Äther und Alkohol ist sie unlöslich. Durch Erdalkali- und Schwermetallsalze kann sie aus ihren Lösungen in Gegenwart von Alkohol leicht ausgeschieden werden. Durch Bestrahlen in alkalischer Lösung geht sie genau wie Lactoflavin in Lumiflavin über. In neutraler Lösung ist die Lactoflavin-phosphorsäure sehr beständig; in saurer Lösung wird die Phosphorsäure schneller abgespalten, als in alkalischer. Darm- und Hefephosphatasen spalten rasch.

Zur Trennung von Lactoflavin und Lactoflavin-phosphorsäure kann man acetylieren und zwischen Wasser und Chloroform verteilen, da die Triacetyl-lactoflavin-phosphorsäure in Wasser gut löslich ist, während das Tetracetyl-lactoflavin in Wasser unlöslich, dagegen in Chloroform gut löslich ist. Benzylalkohol nimmt nur das freie Flavin auf, dagegen keinen Ester[6]).

Eigenschaften des Gelben Fermentes: Das Gelbe Ferment ist in reinem Zustande sehr unbeständig. Selbst Eintrocknen im Vakuum geht nicht ohne eine geringe Zersetzung vor sich. Das Ferment löst sich in destilliertem Wasser und wird bei 67% Ammonsulfatsättigung quantitativ aus der Lösung ausgefällt. Die gelben Lösungen fluoreszieren nicht, zeigen aber dasselbe Absorptionsspektrum wie Lactoflavin, mit einer Verschiebung nach dem Langwelligen zu; der molare Absorptionskoeffizient beträgt $K = 24{,}4 \cdot 10^3$. Das optische Drehungsvermögen beträgt: $[\alpha]_D = -30^0$. Die Zusammensetzung wurde mit C = 51,5; H = 7,37; N = 15,9 und P = 0,043% ermittelt. Das Molekulargewicht, aus der Ultrazentrifugation und aus chemischen Daten ermittelt, beträgt 73000. Der isoelektrische Punkt liegt bei $p_H = 5{,}25$.

Die Reduktion des Gelben Ferments zum Leukoferment ist reversibel und wird schon durch den Luftsauerstoff wieder rückgängig gemacht. Das Redoxpotential ist außerordentlich niedrig und beträgt bei $p_H = 7$ und $20^0$ nur $-0{,}06$ Volt[7]). Physiologische Wirksamkeit und Potential hängen offenbar eng zusammen.

Mit der Anlagerung von synthetischer Lactoflavin-5′-phosphorsäure an den Träger, das Protein, und der Übereinstimmung dieses Produktes

[6]) A. Emmerie, Nature **141**, 416 (1938).

[7]) R. Kuhn u. P. Boulanger, Ber. **69**, 1557 (1936).

mit dem natürlichen gelben Ferment war auch die erste Synthese eines natürlichen Ferments gelungen. R. Kuhn, H. Rudy und deren Mitarbeiter kommt das Verdienst zu, diese erste Ferment-Teil-Synthese ausgeführt zu haben. Es ist nicht unbedingt erforderlich, daß man zur Darstellung von Flavinenzymen von dem Phosphorsäure-ester des Lactoflavins ausgeht. Auch Lactoflavin selbst kann mit dem Protein verbunden werden. Das auf diese Weise erhaltene, synthetische Flavoprotein wirkt als wasserstoffübertragendes Ferment jedoch bedeutend schwächer als das gelbe Ferment. Auch ist es viel labiler als das Flavinenzym und ist schon bei $p_H = 7$ in seine Komponenten zerfallen. Es ist in meßbaren Mengen nur bei großem Überschuß von Lactoflavin erhältlich. Die Verknüpfungsstelle mit dem Protein liegt an der NH-Gruppe 3.

Flavinenzyme mit anderen Zuckerkomponenten als d-Ribose sind ebenfalls zugänglich. In Aufbau und Konstitution sind sie dem gelben Ferment ähnlich.

Bestimmung: Zur rein chemischen Bestimmung des gelben Ferments wird dieses zunächst durch Dialyse vom etwa vorhandenen Flavinphosphat befreit, dann mit Methanol zerlegt und durch Belichtung in alkalischer Lösung in Lumiflavin überführt, das colorimetrisch gemessen wird.

Eine fermentchemische Methode haben Warburg und Christian[1]) ausgearbeitet. Sie besteht darin, daß man Hexosephosphat mit Dehydrase aus Pferdeblut und Flavinenzym durch Sauerstoff dehydriert und den Verbrauch manometrisch mißt. Man kann auch die Thunbergsche Methylenblau-Methode zur Bestimmung heranziehen[8]).

Darstellung des gelben Ferments:

A. Aus Bierhefe: Zur Gewinnung des gelben Ferments selbst ist eine gewisse Vorbehandlung der Bierhefe notwendig. Man trocknet zu diesem Zwecke die dickbreiige Hefe in dünner Schicht bei 25—30°, wobei die Verwendung eines Vakuums gute Dienste leistet. Hierauf wird ein Teil Trockenhefe mit 3 Teilen Wasser gründlich verrührt und 2 Stunden bei 35° stehen gelassen. Man filtriert von den Hefezellen ab und gewinnt so einen fermentreichen, glykogenfreien Hefesaft, der keine Selbstgärung zeigt. Dieser Hefesaft wird hierauf mit basischem Bleiacetat versetzt, wobei man unter Zusatz von etwas Octylalkohol kräftig

[8]) Th. Wagner-Jauregg, E. F. Möller u. H. Rauen, Z. physiol. Chem. **231**, 259; **233**, 215; **237**, 227 (1935).

schüttelt. Das Ferment findet sich in der überstehenden klaren Lösung. Etwa in Lösung gegangenes Blei wird mit Phosphat entfernt.

Das DRP. 632 366 beschreibt die weiteren Arbeitsgänge: 2 Vol. dieses Hefesaftes werden mit 1 Vol. Aceton versetzt und 24 Stunden bei 0° stehen gelassen. Der weiße Niederschlag wird abzentrifugiert und die überstehende Lösung wieder mit 500 ccm Aceton versetzt, wobei das gesamte gelbe Ferment als zähes, gelbes Öl ausfällt. Nach dem Abgießen des Acetons wird das Öl in 500 ccm Wasser gelöst und diese Lösung mit 250 ccm Aceton bei 0° gefällt. Die Umwandlung des gelben Öles in ein gelbes Pulver wird durch wiederholtes Lösen in Wasser und Ausfällen mit eisgekühltem Methanol bei 0° durchgeführt. Das Pulver wird schließlich abgesaugt, mit trockenem Methanol gewaschen und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Gute Kühlung bei den Fällungen ist Bedingung, da sonst größere Verluste an Farbstoff eintreten. Aus 1 Liter Hefesaft erhält man 10 g rohes Ferment.

Nach dem DRP. 637 503 wird der frische Hefesaft vor der Reinigung mit Bleiacetat mit Wasser auf das Zehnfache verdünnt und nach dem Zentrifugieren mit Acetatpuffer auf $p_H = 4$ eingestellt, wobei das Ferment gefällt wird. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, in neutraler Phosphatlösung gelöst und wieder beim isoelektrischen Punkt (Acetatpuffer $p_H = 4$) gefällt.

B. Lactoflavin-phosphorsäure: Die Spaltung des Enzyms mit Methanol ist durch das DRP. 633 392 geschützt. Man löst 1 g reines Ferment in 50 ccm Wasser und gibt bei Zimmertemperatur das dreifache Volumen Methylalkohol zu und zentrifugiert sofort ab. Das Lösungsmittel wird im Vakuum vorsichtig abgedampft. Man kann das Produkt nach dem DRP. 637 386 über ein Erdalkalisalz reinigen, indem die vom Methanol befreite Lösung mit 10proz. Calciumacetatlösung versetzt wird. Nach Zugabe von Alkohol fällt das Salz bei 60° fast vollständig aus. Nach zweimaligem Auflösen in 0,2/n Essigsäure und Ausfällen mit dem halben Volumen Äthylalkohol ist das Präparat ziemlich rein.

C. Synthese der Lactoflavin-phosphorsäure: Die direkte Phosphorylierung ist durch das DRP. 647 721 geschützt. Nach diesem Verfahren erfolgt aber die Anlagerung von Phosphorsäure nicht einheitlich am C-Atom 5′, sondern es erfolgt auch Veresterung an anderen Hydroxylen. Das Verfahren ist folgendes: Man gibt zu einer eisgekühlten Lösung von 6,5 Teilen Lactoflavin in 3500 Teilen Pyridin 2,68 Teile Phosphoroxychlorid und läßt 1 Stunde bei 0° und weitere 8 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen. Das Pyridin wird

im Vakuum abgedampft und das Rohprodukt mit 3000 Teilen Wasser und wäßriger Silbernitratlösung versetzt. Nach dem Abkühlen auf 0° scheidet sich das rohe Silbersalz flockig ab. Es wird in 20proz. Essigsäure unter Zusatz von Natriumacetat warm gelöst und durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zerlegt. Das silberfreie Filtrat wird eingeengt und mit einem Überschuß von Alkohol versetzt. Beim Stehen im Eisschrank krystallisiert das Mononatriumsalz der Lactoflavin-phosphorsäure aus.

Zur Darstellung der reinen Lactoflavin-5'-phosphorsäure benützt man das Verfahren der Synthese von Kuhn, Rudy und Weygand[5]):

Lactoflavin wird in Pyridin mit Triphenylmethylchlorid 2 Stunden auf 70—80° erhitzt. Das Gemisch wird mit Wasser gewaschen und mit Essigsäure extrahiert. Das Trityl-lactoflavin wird in Pyridin mit Essigsäureanhydrid acetyliert und das Acetat aus Essigester und absolutem Alkohol umkrystallisiert. Durch $^1/_2$stündiges Erhitzen mit Essigsäure wird der Tritylrest abgespalten. Das Triacetyl-lactoflavin wird mit Phosphoroxychlorid in Pyridin bei 20—25° phosphoryliert, das Produkt an Frankonit KL adsorbiert und mit Pyridin-Alkohol-Wasser-Gemisch (1 : 1 : 2) eluiert. Die Acetylgruppen werden mit 0,25 n NaOH-Lauge bei Zimmertemperatur abgespalten. Der Ester kann über das Silber- und Calciumsalz weiter gereinigt werden.

## b) Vitamine mit Pyridinkern

### 1. Vitamin $B_6$ (Adermin)

Das Vitamin $B_6$ gehört zu einer bestimmten Gruppe wasserlöslicher Vitamine, welche als „Hautfaktoren" gekennzeichnet sind. Zu ihnen gehört außer dem Adermin das Anti-Pellagra-Vitamin, das als Nicotinsäureamid erkannt worden ist, und der sog. Filtratfaktor, der die Hühnerpellagra zu heilen imstande ist, jedoch nur für Hühner und Tauben notwendig zu sein scheint. Adermin heilt die Rattenpellagra, wenn gleichzeitig Filtratfaktor zugegen ist, allein wirkt es auf Hühnerpellagra nicht ein.

Die Bedeutung dieser Vitamingruppe liegt darin, daß sie zu der Aufrechterhaltung einer normalen Hautfunktion und des Wachstums der Haare notwendig sind. Die mit dem Sammelnamen „Pellagra" charakterisierten Krankheitserscheinungen erfordern je nach der Tierart verschiedene Vitamine, von denen nur das Nicotinsäureamid für den Menschen unbedingt notwendig ist. Die 1925 zuerst von Goldberger beschriebene und von ihm als identisch mit der menschlichen Pellagra

gehaltene „Rattenpellagra“ wurde 1934 von P. György[1]) als besondere Avitaminose erkannt, die bei der Ratte zu einer pellagraähnlichen Dermatitis führt. Auch die bis vor kurzem mit der menschlichen Pellagra verwechselte Hühnerpellagra ist eine Avitaminose für sich, die durch den Filtratfaktor geheilt werden kann. Die Beziehungen der einzelnen Hautfaktoren untereinander sind noch nicht geklärt.

Das Vitamin $B_6$ wurde erstmalig von J. C. Keresztesy und J. R. Stevens[2]) aus Reiskleie in krystallisierter Form dargestellt. Um die gleiche Zeit konnte S. Lepkovsky[3]) ebenfalls aus Reiskleie das krystallisierte Vitamin $B_6$ darstellen. Im gleichen Jahr gelang O. Dalmer[4]) die Darstellung aus Hefe, während im gleichen Monat R. Kuhn und G. Wendt[5]) sowie P. György[6]) ebenfalls aus Hefe das krystallisierte Vitamin isolieren konnten. Von Kuhn und Wendt ist für das krystallisierte Vitamin $B_6$ der Name Adermin (antidermatitisches Vitamin) vorgeschlagen worden. A. van Schoor[7]) konnte es auch aus Leberextrakten und Zuckerrübenmelasse isolieren.

Die Aufklärung der Konstitution gelang in kurzer Zeit Kuhn und Wendt im Jahre 1939. Im selben Jahre folgte die Synthese durch R. Kuhn[8]) und seine Schule.

Vorkommen: Das Adermin kommt vor allem in Hefe und wäßrigen Hefeextrakten, in Fischmuskel, in Reiskleie, in Extrakten aus Rinderleber und in Zuckerrübenmelassen vor. Es findet sich also sowohl in tierischen, als auch in pflanzlichen Materialien. Im Mais wurde es ebenfalls gefunden und Kuhmilch und Frauenmilch haben ungefähr den gleichen Adermingehalt. Eiklar enthält kein Adermin. Für die wirtschaftliche Gewinnung größerer Aderminmengen ist die Isolierung aus natürlichen Rohstoffen nicht geeignet.

Wie das Lactoflavin ist auch das Adermin innerhalb der Zelle an

---

[1]) P. György, Biochem. J. **29**, 741, 760, 767 (1935).

[2]) Proc. Soc. exper. Biol. Med. **38**, 64 (1938); J. amer. chem. Soc. **60**, 1267 (1938).

[3]) Science **87**, 169 (1938); J. Biol. Chem. **124**, 125 (1938).

[4]) Z. angew. Chem. **51**, 174 (1938).

[5]) Ber. **71**, 780, 1118 (1938).

[6]) J. amer. chem. Soc. **60**, 983 (1938).

[7]) E. Mercks Jahresber. **52**, 7 (1938).

[8]) R. Kuhn, G. Wendt, K. Westphal u. O. Westphal, Naturwiss. **27**, 469 (1939).

Eiweiß verankert. Diese Eiweißverbindung, das Adermin-Protein, läßt sich nach Methoden der Eiweißchemie reinigen. Es stellt die eigentliche Wirkform des Vitamins $B_6$ dar. Es kann durch Autolyse und Kochen mit Wasser in seine Komponenten zerlegt werden.

Konstitution: Adermin wurde als Hydrochlorid aus Hefe und Reiskleie dargestellt. Mit Essigsäureanhydrid gibt es ein chloroformlösliches, krystallines Acetat. Salzsäure verwandelt letzteres wieder in Adermin-chlorhydrat. Letzteres besitzt die Formel $C_8H_{12}O_3NCl$. Es ist frei von Schwefel. Bei der Behandlung des Adermin-monomethyläthers mit Bleitetracetat wird kein Tetracetat verbraucht. Die Substanz kann demnach kein $\alpha$-Glykol sein. Die Oxydation mit Chromsäure liefert in guter Ausbeute Essigsäure. Die Oxydation mit Permanganat (2 Atome O) führt zu einer um 4 C-Atome ärmeren Substanz. 7 Atome Sauerstoff oxydieren zu einer Tricarbonsäure, die bei der Anhydridbildung unter Abspaltung von 1 Mol. $CO_2$ zum 3-Methoxy-pyridin-di-carbonsäure-(4.5)-anhydrid wird, das auf synthetischem Wege erhalten wurde und sich als identisch mit dem aus Adermin erhaltenen erwies. Das Absorptionsspektrum des Adermins ähnelt sehr dem von $\beta$-Oxy-pyridin. Adermin gibt, ebenso wie die $\beta$-Oxy-pyridin-verbindungen, mit dem Phenolreagens von Folin-Denis eine tiefblaue Farbreaktion: Adermin muß also ein Derivat des $\beta$-Oxy-pyridins sein. Die Oxydation von Adermin-methyläther mit Bariumpermanganat (4 Atome O) führt zu einer Methoxy-methyl-pyridin-dicarbonsäure, die noch alle C-Atome des Vitamins enthält und mit Essigsäure-anhydrid in ein Anhydrid umgewandelt wurde. Für die freie Säure konnte die Konstitution einer 2-Methyl-3-methoxy-pyridin-dicarbonsäure-(4.5) sichergestellt werden. Damit war für das Adermin die Konstitution eines 3-Oxy-4.5-di-(oxymethyl)-2-methyl-pyridins bewiesen[9]). Sie wurde durch die Synthese bestätigt[8]). Formel s. S. 214.

Eigenschaften: Adermin bildet aus Aceton weiße Nadeln, die bei 159—160° schmelzen. Zusammensetzung: $C_8H_{11}O_3N$. Bei 130° läßt es sich unter $10^{-4}$ mm sublimieren. Das Vitamin $B_6$ ist optisch inaktiv. Das Absorptionsspektrum ähnelt dem des $\beta$-Oxypyridins und zeigt ein Maximum bei 290 m$\mu$ (in n/10 Salzsäure) und bei 248 und 310 m$\mu$ in n/10 Natronlauge.

---

[9]) R. Kuhn u. G. Wendt, Ber. **72**, 305, 311 (1939); R. Kuhn, H. Andersag, K. Westphal u. G. Wendt, Ber. **72**, 309 (1939); R. Kuhn, G. Wendt u. K. Westphal, Ber. **72**, 310 (1939).

Adermin-methyläther — Oxydation mit Bariumpermanganat (4 O) →

$CH_2OH$, $HOH_2C$, $OCH_3$, $CH_3$, N

KMnO$_4$ (7 O)

O, CO, OC, $OCH_3$, N

3-Methoxy-pyridin-di-carbonsäure-(4.5)-anhydrid
$C_8H_5O_4N$

$CH_3 . COOH$
Essigsäure

Oxydation mit $CrO_3$

Methylierung

$CH_2OH$, C, $HOH_2C-C$, $C-OH$, $H-C$, $C-CH_3$, N (4, 5, 3, 6, 2, 1)

Adermin
$C_8H_{11}O_3N$

HBr

$CH_2Br$, $BrH_2C$, OH, $CH_3$, N +, H, $Br^-$

Tribrom-Körper
$C_8H_{10}ONBr_3$

COOH, HOOC, $OCH_3$, $CH_3$, N

2-Methyl-3-methoxy-pyridin-dicarbonsäure-(4.5)
$C_9H_9O_5N$

Essigs.-Anhydrid

O, CO, OC, $OCH_3$, $CH_3$, N

Anhydrid
$C_9H_7O_4N$

Adermin-chlorhydrat, $C_8H_{12}O_3NCl$: Farblose, derbe Prismen, Schmp. 205—206°. Aus salzsaurem Aceton gefiederte Rosetten. Adermin-bromhydrat: Aus Wasser auf Zusatz von Aceton derbe, zu Drusen vereinigte farblose Nadeln oder Doppelpyramiden, Schmp. 193°.

Adermin-acetat: Destilliert bei 85—90° und $10^{-4}$ mm. Krystalle. Biologisch wirksam. Silico-wolframat: Sechskantige Blättchen. Reineckat: Gekreuzte Stäbchen. 2-Methyl-3-oxy-4.5-di-(brommethyl)-pyridinbromhydrat, $C_8H_{10}ONBr_3$ (siehe Formel): Aus Adermin-methyläther mit Bromwasserstoff. Aus Wasser farblose Spieße. Schmp. 217°. Gibt mit 3 Mol. Silberacetat in wäßriger Lösung das freie Vitamin. Mit dem Phenolreagens von Folin-Denis gibt Adermin eine tiefblaue Farbreaktion[5]), mit Fe(III)chlorid eine orangerote. Es kuppelt mit diazotierter Sulfanilsäure unter Bildung eines orangefarbigen Azokörpers.

Adermin-methyl-äther $C_9H_{13}O_3N$: Krystalle. Schmp. 90°. Abs.-Max. 275 m$\mu$ (in Alkohol).

Das Vitamin $B_6$ ist in Wasser gut löslich, schwer löslich in Aceton. Das Chlor- und Bromhydrat sind in Wasser sehr gut löslich, in Alkohol, Aceton, Chloroform aber unlöslich. Das Vitamin ist hitze-, alkali- und säurebeständig. Druckerhitzung zerstört es nicht und es kann auf diese Weise von anderen, begleitenden Vitaminen getrennt werden. Salpetrige Säure ist ohne Einfluß auf das Vitamin. Blei-, Quecksilber- und Silbersalze fällen das Vitamin $B_6$ nicht, wohl aber Phosphorwolframsäure und Silicowolframsäure sowie Reineckesäure. Adermin wird an Kohle und Fullererde adsorbiert. Ultraviolettes Licht zerstört das Vitamin rasch.

Physiologische Wirkung: Die Rattendermatitis ist eine Folge der Diät und entsteht unabhängig davon, ob die Tiere im Dunkeln oder im Lichte gehalten werden. Dadurch unterscheidet sie sich von der menschlichen Pellagra, zu deren Entwicklung die Einwirkung des Sonnenlichtes notwendig ist. Die Vitamin-$B_6$-Avitaminose der Ratte zeigt eine ausgeprägte Lokalisation an der Haut der Pfoten, Nase und Ohren.

Vom krystallisierten Adermin-chlorhydrat sind je Tag und Ratte zur Heilung der Dermatitis 10 $\gamma$ erforderlich. Zur dauernden Heilung ist die Zufuhr des sog. „Filtratfaktors" notwendig, der ebenfalls in Hefe usw. vorkommt. Nach T. Moll und M. Schnittspahn[10]) genügt es, wenn die zur Heilung erforderliche Gesamtmenge des Adermins auf einmal zugeführt wird. Es sind 100 $\gamma$ des Chlorhydrats notwendig, um eine Heilung für 35 Tage zu gewährleisten. Der Organismus besitzt die Fähigkeit, einmalige größere Gaben zu speichern und sie dann allmählich zu verbrauchen.

Das Adermin scheint noch eine gewisse Bedeutung als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien und gewisse Hefen zu besitzen[11]).

In der Hefe kommt das Adermin in einer hochmolekularen, nicht dialysierbaren, hitze- und alkaliempfindlichen Form vor[5]). Wenn man frisch bereiteten Lebedewsaft aus Bierhefe bei einer $+3^0$ nicht übersteigenden Temperatur der Dialyse unterwirft, so geht nur ein kleiner Teil des antidermatitischen Wirkstoffes in die Außenflüssigkeit. Die Hauptmenge vermag die Cellophan-Membran nicht zu durchdringen. Diese hochmolekulare Verbindung des Adermins, das Adermin-Protein, stellt die eigentliche Wirkform des Vitamins $B_6$ dar. Es ist möglich, daß sie Fermentcharakter hat. Aus dem Adermin-Protein läßt sich die prosthetische (Wirkungs-)Gruppe ohne Verlust der Vitaminwirksamkeit in Freiheit setzen.

---

10) E. Mercks Jahresber. **52**, 10 (1938).

11) Möller, Z. physiol. Chem. **254**, 285 (1938).

Darstellung: Die Darstellung des Adermins aus Naturstoffen hat noch keine technische Bedeutung erlangt. Man extrahiert Reisschalen mit Wasser bei höheren Temperaturen und behandelt die wäßrigen Extrakte mit wenig Fullererde, um das Lactoflavin zu entfernen. Das von der Fullererde getrennte Filtrat wird nun an viel Fullererde adsorbiert, mit Bariumhydroxyd eluiert und bei pH = 8 im Vakuum eingeengt. Man entfernt die Reste des Bariums mit Schwefelsäure, engt wieder ein und versetzt mit Methanol. Es wird von der Fällung abfiltriert und das Filtrat wird im Vakuum eingedampft. Aus dem Rückstand gewinnt man durch Acetylierung das Adermin-acetat. Die nach der Verseifung erhaltenen salzsauren Lösungen kommen unmittelbar zur Krystallisation[2][3][4][5][6].

Synthese des Adermins: Die Synthese des Adermins gelang ungefähr gleichzeitig S. A. Harris und K. Folkers[12] und R. Kuhn[8] und seiner Schule. Im folgenden soll hier die Synthese von R. Kuhn beschrieben werden.

Ausgangspunkt der Synthese ist die synthetische 2-Methyl-3-methoxy-pyridin-4.5-dicarbonsäure, welche als Oxydationsprodukt des Adermins zu dessen Konstitutionsermittlung diente. Sie ist vom 3-Methyl-4-methoxy-isochinolin (Sdp. 115°, 2,5 mm) aus über die Bz-Nitro- und Bz-Aminoverbindung (Schmp. 118°) durch Oxydation mit Kaliumpermanganat zugänglich.

Die synthetische Dicarbonsäure (I) läßt sich über ihr Diamid zum 2-Methyl-3-methoxy-4.5-dicyanpyridin (II) abwandeln (Schmp. 70°), das bei der katalytischen Hydrierung unter Aufnahme von 8 H-Atomen die Base (III) liefert: 2-Methyl-3-methoxy-4.5-bis-(aminomethyl)-pyridin. Aus diesem Körper erhält man mit Nitrit farblose Nädelchen vom Schmp. 90°, dessen Chlorhydrat bei 150° schmilzt und identisch ist mit dem Adermin-methyläther-chlorhydrat (IV) aus Naturstoffen. Der Methyläther läßt sich durch Kochen mit Bromwasserstoffsäure in das Bromhydrat des Bis-brommethyl-adermins (V) überführen, das durch Austausch des Broms gegen Hydroxyl mit Hilfe von Silberacetat[9]) in Adermin (VI) überführt werden kann. Es krystallisiert aus wenig verdünnter Salzsäure auf Zusatz von Aceton als Chlorhydrat in derben Prismen vom Schmp. 203 bis 204° aus.

Nachweis und Bestimmung: Die bekannte Kupplungsreaktion mit diazotierter Sulfanilsäure ist für eine quantitative colorimetrische Bestimmung des Adermins nicht geeignet. Auch die Farb-

[12]) J. amer. chem. Soc. 61, 1245 (1939).

COOH, HOOC, $OCH_3$, $CH_3$, N — I. ⟶ CN, NC, $OCH_3$, $CH_3$, N — II. ⟶ $CH_2.NH_2$, $H_2N.H_2C$, $OCH_3$, $CH_3$, N — III.

$CH_2OH$, $HOH_2C$, $OCH_3$, $CH_3$, N — IV. ⟶ $CH_2Br$, $BrH_2C$, OH, $CH_3$, $N^+$, H, $Br^-$ — V. ⟶ $CH_2OH$, $HOH_2C$, OH, $CH_3$, N — VI.

reaktion mit dem Reagens von Folin-Denis ist für eine genaue Bestimmung nicht gut zu verwenden, da die Lösungen leicht trübe werden. Beide Reaktionen sind zu unspezifisch für das Vitamin $B_6$, da sie ganz allgemein von Phenolen und auch von verschiedenen Aminosäuren und anderen Zellbestandteilen gegeben werden und deshalb zu Fehlresultaten Anlaß geben können.

R. Kuhn und I. Löw [13]) haben deshalb eine genaue Bestimmungsmethode für Vitamin $B_6$ ausgearbeitet, die für Adermin spezifisch ist und es gestattet, noch 0,1 mg Adermin-chlorhydrat zu erfassen. Die Methode beruht auf der Eigenschaft der $\alpha$-Picoline, prachtvolle Cyaninfarbstoffe zu geben. Da auch das Adermin als Derivat des $\alpha$-Picolins anzusehen ist, war es möglich, diese Reaktion zu einer Bestimmungsmethode auszuarbeiten.

Zu ihrer Ausführung wird die auf Adermin zu prüfende Substanz durch Behandlung mit Diazomethan in den O-Methyl-äther übergeführt, worauf dieser durch Anlagerung von Jodmethyl, Dimethylsulfat oder p-Toluol-sulfonsäure-methylester in eine quartäre Pyridiniumverbindung übergeführt wird. Das Jodmethylat des Adermin-methyläthers stellt eine schön krystallisierende Verbindung dar, die bei kurzem Erhitzen mit Chloroform und 20proz. wäßriger Kalilauge bei Gegenwart von Alkohol violette Farbstoffe der Carbopyridin-cyanin-Reihe liefert.

[13]) Ber. **72**, 1453 (1939).

$CH_2OH$, $HOH_2C$, $OCH_3$, $CH_3$, N — Adermin-methyläther

Jodmethyl →

$CH_2OH$, $HOH_2C$, $OCH_3$, $CH_3$, $\overset{+}{N}$, $H_3C$, $\bar{J}$ — Adermin-methyläther-jodmethylat

$CH_2OH$, $HOH_2C$, $OCH_3$, $H_3CO$, $CH_2OH$, $-CH:CH-CH=$, $\overset{+}{N}$, $H_3C$, $\bar{J}$, N, $CH_3$ — Adermin-violett

An Stelle von Natronlauge kann man besser Natriumalkoholat verwenden. Zur Ausführung der Bestimmung versetzt man eine Spur des Jodmethylats (Methylsulfats, p-Toluolsulfomethylats) mit 2—3 Tropfen einer Lösung von 1 g Natrium in 20 ccm absolutem Alkohol. Nach 10—20 Sekunden gibt man zur gelben Lösung einige Tropfen Chloroform, wobei sofort schon in der Kälte Violettfärbung eintritt.

Das Adermin-violett ist gegen verdünnte Säuren sehr empfindlich. Gegen Alkalien ist es sehr beständig. Die verdünnte Lösung in Chloroform fluoresciert lebhaft rot und zersetzt sich im Lichte nach kurzer Zeit. Charakteristisch sind die schmalen Absorptionsbanden: In alkoholhaltigem Chloroform 599 und 555 m$\mu$ und in 20proz. Kalilauge 592 und 543 m$\mu$.

Darstellung des 2-Methyl-3-methoxy-4.5-bis-oxymethyl-pyridinium-jodmethylats: 0,1 g Adermin-methyläther[14]) (aus Adermin mit Diazomethan in Methylalkohol) werden mit 1 ccm Jodmethyl 2 Stunden im Mikrobombenrohr auf 100° erhitzt. Beim Erkalten scheidet sich das Jodmethylat in seidenglänzenden schwach gelbstichigen Nadeln ab. Leicht löslich in Wasser und Alkohol, fast unlöslich in Äther, Benzol, Aceton, Chloroform und Hexan. Zusammensetzung $C_{10}H_{16}O_3NJ$. Schmp. 125—126°.

---

[14]) R. Kuhn u. G. Wendt, Ber. 71, 1534 (1938).

## 2. Antipellagra-Vitamin und Codehydrasen

### Nicotinsäure-amid

Nachdem lange Zeit hindurch der Avitaminosecharakter der menschlichen Pellagra bestritten und diese Erkrankung ausschließlich auf den Genuß minderwertigen Eiweißes zurückgeführt worden war, steht heute fest, daß diese Krankheit des Menschen, der Schweine und Hunde usw. durch einen Faktor geheilt werden kann, also eine echte Avitaminose ist. Die Identifizierung dieses Faktors gelang 1937 C. A. Elvehjem, nachdem er ihn in krystallinischer Form aus Rinderleber isoliert hatte. Die als Hydrochlorid dargestellten Krystalle erwiesen sich als identisch mit dem Hydrochlorid des Nicotinsäure-amids, das dann auch als freie Base dargestellt werden konnte. Die zuerst am Hunde erwiesene Heilwirkung dieses relativ einfachen Vitamins wurde dann in kurzer Zeit als wirksam gegen die menschliche Pellagra erkannt. Nicotinsäure selbst ist ebenfalls physiologisch wirksam, entfaltet aber ihre Wirksamkeit erst nach längerer Zeit.

Nicotinsäure-amid ist ein Stoff, der von jeder lebenden Zelle benötigt wird. Es wird nach Aufnahme mit der Nahrung im Organismus durch Anlagerung anderer Molekülgruppen und Bindung an Eiweiß in körpereigene Wirkstoffe von Fermentcharakter umgewandelt. Es ist demnach als Proferment aufzufassen.

Konstitution: Die von Elvehjem[1]) und seinen Mitarbeitern durchgeführten Versuche ergaben die Identität des Anti-Pellagra-Vitamins mit dem Amid der Nicotinsäure, Pyridin-$\beta$-carbonsäure-amid:

```
        CH                                CH
       //\         O                     //\         O
    HC/   \\C—C//                     HC/   \\C—C//
     ||    |    \                      ||    |    \
     ||    |     \OH                   ||    |     \NH2
    HC\   //CH                        HC\   //CH
       \\/                               \\/
        N                                 N
```

Nicotinsäure $C_6H_5O_2N$ Nicotinsäure-amid $C_6H_6ON_2$

Vorkommen: Das Anti-Pellagra-Vitamin kommt sowohl in Form der freien Nicotinsäure als auch ihres Amids in vielen grünen Pflanzen, besonders aber in Hefe, in Herz, Leber und anderen Or-

[1]) C. A. Elvehjem u. Mitarb., J. biol. Chem. **118**, 693 (1937); J. amer. chem. Soc. **59**, 1769 (1937).

ganen vor. Reich an dem Vitamin ist auch das Muskelfleisch, von pflanzlichen Materialien Kohlrüben, rote Rüben und Reiskleie.

Eigenschaften und Nachweis: Nicotinsäure-amid bildet farblose Krystalle der Zusammensetzung $C_6H_6ON_2$. Schmp. 122°. Es ist in Wasser, Alkohol, Aceton und Benzol gut löslich. Das Hydrochlorid schmilzt bei 227—228°.

Nicotinsäure-amid gibt, wie alle Pyridine, mit Säurechloriden quaternäre Verbindungen, die durch Alkali zu tiefroten Farbstoffen abgebaut werden. Zur Anlagerung eignet sich besonders 2.4-Dinitro-chlorbenzol, das mit Pyridin folgendermaßen reagiert:

N
Cl  $C_6H_3(NO_2)_2$  $\xrightarrow{NaOH}$  Roter Farbstoff

Zur Ausführung der Bestimmung wird Nicotinsäure-amid mit 2.4-Dinitro-chlorbenzol verschmolzen, die Schmelze mit Äther ausgezogen, mit 1proz. NaOH alkalisch gemacht und die Farbe colorimetrisch bestimmt[2]). Die Reaktion tritt bei allen Pyridinderivaten mit tertiärem Stickstoffatom auf*).

Darstellung: Nicotinsäure und Nicotinsäure-amid sind als Handelsware leicht und billig zu beschaffen, da sie Produkte der organischen Industrie sind. Sie stellen, wirtschaftlich betrachtet, die billigsten Vitamine dar. Die Darstellung aus natürlichen Quellen soll daher hier nur kurz erwähnt werden.

Wäßrige Extrakte aus Rindsleber oder Bierhefe werden mit Amylalkohol extrahiert. Der amylalkohollösliche Teil wird durch fraktionierte Fällung mit Alkohol und Aceton gereinigt und das Vitamin an Noritkohle adsorbiert. Durch Destillation im Hochvakuum, Fällung mit Quecksilberchlorid und Zerlegen des Quecksilbersalzes wird das Vitamin als Hydrochlorid krystallisiert erhalten.

Konstitution und biologische Wirkung: Die Wirkungsweise des Anti-Pellagravitamins ist noch nicht in allen Punkten genügend geklärt. Bekanntlich ist zur Entstehung der Pellagra die Einwirkung des Sonnenlichtes notwendig. Für die menschliche Pellagra sind

---

[2]) P. Karrer u. H. Keller, Helv. chim. acta **21**, 463 (1938); S. P. Vilter u. Mitarb., J. amer. chem. Soc. **60**, 731 (1938).

*) Siehe das Buch von F. Gstirner l. c.

Eisenverluste des Organismus und Porphyrinurie zwei typische Stoffwechseldefekte. Dabei geht der Grad der Porphyrinurie der Schwere der pellagrösen Erkrankung genau parallel. Die Art des mit dem Harn ausgeschiedenen Porphyrins beweist, daß die pellagröse Porphyrinausscheidung durch eine Entgleisung der Hämoglobinsynthese bedingt ist. Perorale Gaben von Nicotinsäure können diese Krankheitserscheinung schlagartig beseitigen. Dieser Umstand beweist, daß das Anti-Pellagravitamin für den Aufbau des Hämins unentbehrlich ist.

Die zweite Aufgabe des Anti-Pellagravitamins besteht darin, daß es zur normalen Eiweißverwertung notwendig ist. In Ländern, deren Bevölkerung sich einseitig von einer bestimmten Eiweißart ernährt, ist Pellagra sehr häufig. Mais und Weizengries kommen hier vor allem in Betracht. Inwiefern das Vitamin in den Eiweißstoffwechsel eingreift, ist noch unbekannt.

Es gibt pflanzliche Stoffe, die wie Nicotinsäure-amid wirken können. Sie sind jedoch frei von Nicotinsäure und ihrem Amid. Man muß also annehmen, daß für die Heilwirkung mancher Pflanzen ein anderer Körper verantwortlich zu machen ist. Dieser Körper ist das im Bockshornklee und anderen Pflanzen vorkommende Alkaloid Trigonellin. Es hat die Zusammensetzung $C_7H_7O_2N.H_2O$ und ist als inneres Salz der N-Methyl-pyridin-$\beta$-carbonsäure aufzufassen.

```
        CH
      //  \\
   HC        C—C=O
   ||        |    \
   HC        CH    O⁻
     \\    //
        N +
        |
        CH3
```

Trigonellin kommt außer in Pflanzen auch im Harn, in Säugetierlebern und in Rindernebennieren vor[3]). Der Hundeorganismus vermag verfütterte Nicotinsäure in Trigonellin umzuwandeln. Der Organismus kann Nicotinsäure und Trigonellin ineinander umwandeln; dieser Vorgang findet in der Leber statt.

Alle bisher dargestellten wasserlöslichen Vitamine sind durch die gemeinsame Eigenschaft reversibler Oxydo-reduzierbarkeit gekennzeichnet. Freie Nicotinsäure und ihr Amid besitzen diese Eigenschaft nicht, dagegen das Trigonellin und die später zu besprechenden Codehydrasen,

[3]) J. Kühnau, Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 50. Kongr. **1938**, 371.

die ebenfalls am Pyridinstickstoff Alkylketten tragen. Auch die wahre Aktivform des Pellagravitamins dürfte ein reversibles Redoxsystem bilden. Die Reduktionsprodukte der Körper vom Trigonellintyp gehören zu den stärksten Reduktionsmitteln. Dies dürfte auf einen besonderen biologischen Wert dieses Stoffes schließen lassen.

## Die Codehydrasen

Das Anti-Pellagravitamin stellt die *exogene Vorstufe* der Codehydrasen dar. Es ist demnach die Wirkgruppe von Cofermenten. Solche *Cofermente* finden sich als *Atmungscoferment* in den *roten Blutkörperchen* und als *Cozymase* in der *Hefe*.

```
        /CO.NH2
  //\  /
 |   ||          N=====CH-----N
 |   ||          |            ||
  \\ /           C-----C------C
   N(+)          |     |      |
   |             N\  H //N    NH2
  HC---|         |  \C//
   |   |         HC---|              Cozymase
 HOCH  |         |    |
   |   O        HOCH  |
 HOCH  |         |    O
   |   |(-)     HOCH  |
  HC---| O    OH HC---|
   |     |    |  |
  CH2.O.P.O.P.O.CH2          +2H ↓   ↑ −2H
        ||   ||
        O    O

        /CO.NH2
  //\  /
 |   | /H        N=====CH-----N
 |   |<          |            ||
  \ / \H         C=====C------C
   N             |     |      |
   |             N\  H //N    NH2
  HC---|         |  \C//
   |   |         HC---|              Reduzierte
 HOCH  |         |    |              Cozymase
   |   O        HOCH  |
 HOCH  |         |    O
   |   |        HOCH  |
  HC---| OH   OH HC---|
   |     |    |  |
  CH2.O.P.O.P.O.CH2
        ||   ||
        O    O
```

Das Atmungscoferment gibt bei der Spaltung mit Säure 1 Mol. Adenin, 1 Mol. Nicotinsäure-amid, 2 Mol. Pentose und 3 Mol. Phosphorsäure. Es ist daher als Triphospho-pyridin-nucleotid anzusprechen[4]).

Die Cozymase der Hefe ist entsprechend gebaut, enthält jedoch nur 2 Mol. Phosphorsäure und ist ein Diphospho-pyridin-nucleotid[5]).

Die Codehydrasen sind an spezifische Proteine locker gebunden. Sie übertragen in dieser Form Wasserstoff vom Substrat auf andere Wasserstoffacceptoren und werden dabei abwechselnd hydriert und dehydriert. Bei der Reduktion werden zwei Atome Wasserstoff aufgenommen, wobei ein o-Dihydro-pyridin entsteht und gleichzeitig ein zweites H-Ion an der Pyrophosphorsäuregruppe auftritt. Der Vorgang kann optisch verfolgt und gemessen werden, weil das reduzierte Coferment eine neue Absorptionsbande bei 345 m$\mu$ aufweist, während das dehydrierte Coferment nur eine Bande bei 260 m$\mu$ besitzt.

Die Dihydro-codehydrasen sind ziemlich stabile Körper und werden durch den Luftsauerstoff nicht oxydiert. Der Wasserstoff wird aber sehr leicht an das gelbe Ferment abgegeben, das somit einen wichtigen, aber nicht den einzigen Wasserstoffacceptor der hydrierten Codehydrasen darstellt. Die Vorgänge lassen sich folgendermaßen schematisch darstellen:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dehydrierbares Substrat | Codehydrase | | |
| Substrat — 2 H | Codehydrase + 2 H | Flavinenzym | |
| | Codehydrase | Flavinenzym + 2 H | $O_2$ (oder anderer Acceptor) |
| | | Flavinenzym | Hydroperoxyd (od. anderes Hydrierungsprodukt) |

[4]) O. Warburg, W. Christian u. A. Griese, Biochem. Z. **282**, 156 (1936).

[5]) H. v. Euler, H. Albers u. F. Schlenk, Biochem. Z. **286**, 140 (1936).

# C. Ungenügend definierte Vitamine

## 1. Hühner-Antidermatitis-Vitamin (Pantothensäure)

Norris-Ringrose[1]) führte die sog. Hühner-Dermatitis auf einen Mangel an einem bestimmten Wirkstoff zurück. Die Dermatitis tritt besonders bei Kücken auf und äußert sich in pellagraähnlichen Erscheinungen (Hühner-Pellagra). Die Befiederung bleibt zurück und die Federn werden rauh. Am Schnabel, besonders an den Mundwinkeln, entwickeln sich krustenartige Ablagerungen, die sich schnell ausbreiten. An den Beinen und Füßen treten Schorfbildungen auf. Es herrscht Wachstumsstillstand. Nach etwa 2 Wochen tritt der Tod ein.

Auch für die Fortpflanzung und für die normale Ausbrütung der Eier ist das Vitamin wichtig, dagegen scheint es ohne Einfluß auf die Eierproduktion selbst zu sein.

Das Vitamin kommt meist mit Vitamin $B_6$ zusammen vor. Es ist aber mit diesem nicht identisch. Der Bedarf des Huhnes beträgt nach neuesten Forschungen 1,4 mg pro 100 g Nahrung[2]).

Das Vitamin kommt besonders in Leber, Niere, Herz, Hefe und Reiskleie vor. Melasse enthält es ebenfalls. Muskelgewebe wenig. Es läßt sich gut aus Trockenhefe gewinnen. Magermilchpulver kann als Ausgangsmaterial dienen, da es in Milch vorkommt. In Hefe scheint es in gebundener Form vorzuliegen. Rindsleber enthält pro g 10 Einheiten. Hefe 20 E., Trockenmolke 4 E.

Das Vitamin ist hitze- und alkalilabil. Durch mehrstündiges Kochen im Autoklaven bei $p_H = 10$ wird es im Gegensatz zu $B_6$ vollständig vernichtet. Ebenso durch 5stündiges Erhitzen im Autoklaven bei 120°. Gegen Licht ist es beständig. In alkalischer Lösung wird es bei 100° zerstört, bei Zimmertemperatur ist es jedoch beständig. In saurer Lösung und durch Permanganat wird es zerstört. Durch Brom wird es weder in saurer noch in alkalischer Lösung angegriffen[3]).

Von Fullererde wird es nicht adsorbiert, daher der frühere Name

[1]) Science **71**, 643 (1930).
[2]) Th. H. Jukes, J. biol. Chem. **129**, 225 (1939).
[3]) Th. H. Jukes, J. biol. Chem. **128**, 35 (1939).

„Filtratfaktor". Durch Norit kann es aus Lösungen adsorbiert werden. In Wasser, Aceton, Alkohol, Amylalkohol ist das Vitamin löslich.

Das Hühner-Adermin ist identisch mit Pantothensäure[4]). Das Acetat der Pantothensäure ist wie das Acetat des Vitamins aus Naturstoffen hitzebeständig und destilliert bei gleicher Temperatur und gleichem Druck (100°, $10^{-5}$)[5]). Das Calciumsalz der Pantothensäure verhält sich biologisch genau wie das Vitamin.

Die Pantothensäure ($C_9H_{17}O_5N$) stellt eine Verbindung von $\beta$-Alanin mit einer Dioxyvaleriansäure dar. Es liegt Amidbindung vor. Die Säure ist identisch mit dem Hühnerantidermatitis-Faktor und gehört als Vitamin zur Gruppe der B-Vitamine. Nach W. C Evans, W. R. C. Handel und F. C. Happold[6]) kann sie durch Kulturen von C. diphtheriae in bestimmten Nährböden, die Nicotinsäure, Pimelinsäure und $\beta$-Alanin enthalten, synthetisiert werden.

Nach einer neueren Mitteilung[7]) konnten R. J. Williams und R. T. Major aus großen Mengen von Leberkonzentrat 3—4% pantothensaures Barium gewinnen, aus dem ein Lacton vom Schmp. 91—92° isoliert werden konnte:

```
H3C       OH
   \      |
    >C————C————C=O
H3C/  |   H    |        Lacton C6H10O3
      |        |
      CH2O—————
```

Der Abbau dieses Lactons bestätigte die Zusammensetzung als $\alpha$-Oxy-$\beta$,$\beta$-dimethyl-$\gamma$-butyrolacton. Der Körper konnte synthetisch hergestellt werden. Kondensation des Lactons mit $\beta$-Alanin gab Pantothensäure, die somit synthetisch zugänglich ist. Die Formel der Pantothensäure ist folgende:

```
           CH3 OH
            |  |
HO.CH2——C——CH——CO——NH.CH2——CH2——COOH
            |
           CH3
```

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte auch D. W. Wooley[8]), der

---

[4]) D. H. Wooley, H. A. Waisman u. C. A. Elvehjem, J. amer. chem. Soc. **61**, 977 (1939).

[5]) D. W. Wooley u. Mitarb., J. biol. Chem. **125**, 715 (1938).

[6]) Brit. J. exp. Pathol. **20**, 396 (1939).

[7]) Science **91**, 246 (1940).

[8]) Science **91**, 245 (1940).

ein krystallisiertes Derivat der durch Spaltung des Vitamins erhältlichen Oxysäure darstellte. Die Säure selbst gibt mit $\beta$-Alanin das Vitamin.

Die Darstellung des Faktors aus Magermilch und Trockenhefe beruht auf der Acetonlöslichkeit des Vitamins. Man erhält vitaminreiche Extrakte, die für biologische Versuche genügend rein sind. Aus Leberextrakten kann man an Norit adsorbieren, eluieren, zur Trockne eindampfen und den Rückstand acetylieren. Das Acetat wird der Mol.-Destillation unterworfen[5]).

Nach einem Verfahren von Y. Subbarow und G. H. Hitchings[9]) wird Leber mit 95proz. Alkohol extrahiert und die mit Wasser versetzte Lösung mit Amylalkohol ausgeschüttelt. Man überführt in verdünntes, wäßriges Alkali, adsorbiert an Norit und eluiert mit heißem 60proz. Alkohol. Man stellt das Brucinsalz her, das zwischen Chloroform und Wasser verteilt wird. Überführung des wasserlöslichen Brucinsalzes in das Ca-Salz und fraktionierte Krystallisation. 160 kg Leber ergaben 510 mg des Ca-Salzes, das sich als identisch erwies mit dem Ca-Salz der Pantothensäure.

## 2. Das Hautvitamin F

Als Hautvitamin F wird in der Literatur ein Gemisch ungesättigter Fettsäuren beschrieben, bei deren Fehlen bei der Ratte Hautnekrosen und andere Erscheinungen auftreten. Auch für die Fortpflanzung und Lactation scheint es wichtig zu sein. Die Hauterscheinungen bei F-Mangel sind: Trockenheit, Rauheit und Schuppigkeit. Dieses Vitamin soll auch beim Menschen als Hautnahrung und Hautpflegemittel von Wichtigkeit sein. Die günstige Wirkung auf die Haut wird technisch durch Zumischung des Vitamins zu Hautsalben ausgenützt (Satina-Creme). Es kommt vor allem im Sesamöl vor, gehört also zu den fettlöslichen Vitaminen. Dort kann es als $\alpha$-Linolsäure in Form des Tetrabromids in einer Menge von 14,2% isoliert werden[10]).

Das Vitamin besteht aus einer Reihe ungesättigter Fettsäuren, ist aber nicht genügend definiert. Alle aktiven Substanzen, die F-Vitamin-Wirkung zeigen, enthalten 9.12-Linolsäure in biologisch aktiver Form. Diese Form ist jedoch nicht gekennzeichnet. Freie Carboxylgruppen scheinen für die Wirkung wichtig zu sein. Linolensäure sowie Arachidon- und Clupanodonsäure sollen ebenfalls in den Gemischen

[9]) J. amer. chem. Soc. 61, 1615 (1939).

[10]) A. A. Hoover, Ceylon J. Sci., Sect. D 5, 55 (1939).

vorhanden sein[11]). Dieser Faktor unterscheidet sich von den meisten „Vitaminen“ dadurch, daß die Wirkungsmengen bedeutend höher liegen als dort.

Die biologische Forschung kennt außer den bisher besprochenen Vitaminen mit bekannter chemischer Konstitution noch eine größere Zahl von Wirkstoffen, deren Aufbau bisher noch nicht erkannt wurde, deren Existenz aber durch die Mangelkrankheiten, welche bei ihrem Fehlen in der Nahrung auftreten, hinreichend gesichert erscheint Trotzdem kann bei einigen dieser Vitamine die Möglichkeit, daß sie mit dem einen oder andern der genau bekannten Vitamine identisch sind nicht für ausgeschlossen gelten.

Über die im folgenden Abschnitt behandelten Vitamine ist zum Teil chemisch sehr wenig bekannt. Die technische Bedeutung ist deshalb meist sehr gering und brauchbare Verfahren zu ihrer Gewinnung sind kaum vorhanden. Die rein wissenschaftlichen Darstellungsmethoden sind teils sehr kompliziert, teils wegen ihrer Kostspieligkeit in der Technik nicht zu verwenden. In biologischer Hinsicht sind einige der hier zu besprechenden Wirkstoffe für Mensch und Tier gleich wichtig; andere scheinen nur für Tiere, andere nur für Vögel wichtig und unentbehrlich.

Von ganz besonderer Wichtigkeit sind in dieser Gruppe die sog. „antianämischen Faktoren“. Ihnen dürfte einmal eine sehr große Bedeutung für die Medizin zukommen, wenn man sie in ihrem chemischen Aufbau erkannt haben wird und wenn man sie wird synthetisch darstellen können. Die verwickelten Beziehungen dieser Wirkstoffe untereinander und zum Vorgang der Blutbildung sind in den Grundzügen bekannt, doch bleibt hier noch sehr viel offen.

## 3. Die Vitamine $B_3$ und $B_5$

Vorkommen und Wirkung: Diese beiden wasserlöslichen Vitamine kommen vor allem in der Hefe vor. Außerdem finden sie sich in Getreide, in der Leber und in Malzextrakt. Milch ist im allgemeinen sehr arm an diesen Vitaminen. Muskel kann Spuren von ihnen enthalten. Die beste Quelle ist Hefe und Weizen. In Pflanzen kommt das Vitamin $B_3$ wahrscheinlich an einen hochmoleku-

[11]) F. Grandel, Fette — Seifen 46, 150 (1939); J. Augustin, Seifensieder-Z. 66, 233 (1939); H. Ruf, Dtsch. Apoth.-Z. 54, 872 (1939); Brown, Hansen u. Burr, J. Nutrit. 15, 13 (1938); Shephard u. Linn, Drug. a. Cosm. Ind. 38, 629 (1936); Evans, Lepkovsky u. Murphy, J. biol. Chem. 106, 431, 441, 445 (1939).

laren Träger gebunden vor und ist in dieser Form stabiler, als es in den Lösungen ist, wo es sich in niedermolekularer Form vorfindet.

Die Vitamine $B_3$ und $B_5$ sind nur für Tauben und Kücken lebenswichtig. Das erstere ermöglicht die Gewichtszunahme der Vögel, die durch Zufuhr von Vitamin $B_1$ allein nicht gewährleistet wird. Werden nämlich polyneuritiskranke Tauben mit Vitamin $B_1$ geheilt, so wird diese zwar geheilt, es tritt aber eine auffallende Gewichtsabnahme ein, die mit Mattigkeit, Bewegungsunlust und schweren Herzstörungen verbunden ist. Zufuhr von Hefe oder anderen Materialien, die das Vitamin $B_3$ enthalten, bessern diese Erscheinungen und es erfolgt Gewichtsanstieg.

Das Vitamin $B_5$ wirkt an durch $B_1$ von der Polyneuritis geheilten Tauben und Kücken so, daß es das Gewicht erhält und vor Abstieg bewahrt. Zum Gewichtsanstieg ist aber Zufuhr von $B_3$ erforderlich.

Eigenschaften: Die beiden Vitamine unterscheiden sich augenfällig durch ihre ganz verschiedene Empfindlichkeit gegen Alkalien, gegen das Erhitzen im Autoklaven und gegen Luftoxydation. Beide Vitamine sind aber in ihren Löslichkeitseigenschaften sehr ähnlich.

Vitamin $B_3$ ist wasserlöslich und wird durch Erhitzen auf Temperaturen über 60° zerstört. Beim Stehen an der Luft verlieren die Extrakte ihre Wirksamkeit vollständig. Alkalische Reaktion der Lösung vernichtet die Aktivität in einigen Stunden. Gegen verdünnte Säuren ist es jedoch ziemlich beständig. An Fullererde ist es nur schwer adsorbierbar.

Vitamin $B_5$ verhält sich in seiner Löslichkeit und Adsorptionsfähigkeit wie das Vitamin $B_1$. Es ist sehr stabil. Erhitzen auf 115° im Autoklaven zerstört das Vitamin nicht, während begleitendes $B_3$ vollkommen vernichtet wird. Kurze Alkalibehandlung in der Wärme schadet dem Vitamin $B_5$ nicht. Es ist fällbar durch Bleiessig und Bariumhydroxyd. Das Adsorbat an Kohle kann durch alkoholische Salzsäure eluiert werden, nicht jedoch durch wäßrige Salzsäure. Man verwendet 50proz. Alkohol, der etwas angesäuert wird.

Darstellung: Zerkleinerte Schafsleber wird erst mit 96proz. und anschließend mit 50proz. Alkohol extrahiert. Der Extrakt wird im Vakuum eingeengt und mit etwas Wasser versetzt. Man schüttelt hierauf mit Äther durch. Die wäßrige Schicht wird mit Aceton gefällt, filtriert und eingeengt. Der Syrup enthält beide Vitamine und etwas Flavin.

Zur Gewinnung von $B_5$-Konzentraten werden wäßrige Hefeextrakte an Kohle adsorbiert. Die Kohle wird gewaschen und mit 50proz., mit

Salzsäure angesäuertem Alkohol eluiert. Das mitextrahierte Vitamin $B_1$ kann durch Druckerhitzung zerstört werden, während $B_5$ unverändert bleibt. Das Eluat wird im Vakuum eingeengt. Angaben über die chemische Konstitution liegen nicht vor[12]).

## 4. Das Vitamin $B_4$

Vorkommen, Wirksamkeit und Darstellung: Dieses Vitamin, das für Ratten, aber wahrscheinlich für alle Säugetiere und auch den Menschen unentbehrlich zu sein scheint, kommt gemeinsam mit anderen B-Vitaminen reichlich in Hefe, Leber, Niere, Herz, Blut und Eiklar vor. Es begleitet vor allem das Vitamin $B_2$.

Tiere, die unter $B_4$-Mangel leiden, aber genügend Vitamin $B_1$ und $B_2$, sowie $B_3$ und $B_5$ erhalten, erkranken unter Stillstand des Wachstums. Es treten Muskelschwäche, Koordinationsstörungen, Drehbewegungen, Schwellung und Rötung der Pfoten auf. Die Tiere sitzen in einer für diese Avitaminose charakteristischen Stellung mit hochgezogenem Rücken und zeigen spastischen Gang. Die Erscheinungen führen unter Kollapszuständen zum Tode.

Junge, wachsende Ratten sind besonders auf die Zufuhr von Vitamin $B_4$ angewiesen. Zufuhr von Hefeextrakt bewirkt normales Wachstum und Schwinden der Erscheinungen. Tauben brauchen es nicht.

Das Vitamin $B_4$ ist thermolabil. Bei 120° und $p_H = 9$ ist es nach 5 Stunden zu 50% zerstört, während z. B. $B_1$ noch nicht angegriffen ist. Druckerhitzung zerstört ebenfalls. Gegen Alkali ist es empfindlich. Es ist löslich in Wasser, aber unlöslich in Alkohol und Aceton.

Im Gegensatz zu $B_1$ und $B_2$ wird das Vitamin durch Quecksilbersulfat gefällt. Die Fällbarkeit hängt sehr vom Reinheitsgrad der Lösung ab. Bei $p_H = 2{,}5$ wird es auch von Phosphorwolframsäure gefällt. In stark saurer Lösung wird es an Norit adsorbiert.

Näheres über die Chemie dieses Vitamins ist nicht bekannt[13]).

---

[12]) R. R. Williams u. R. E. Watermans, J. biol. Chem. **78**, 311 (1928); C. W. Carter u. J. R. O'Brien, Biochem. J. **31**, 2264, 2270 (1937); H. R. Bird u. Mitarb., J. Nutr. (Amer.) **12**, 571 (1936); J. R. O'Brien, Biochem. J. **28**, 926 (1934); H. v. Euler u. Mitarb., Ark. Kem. Mineral. Geol. 12 B **33**, (1937); C. W. Carter, H. W. Kinnersley u. R. A. Peters, Biochem. J. **24**, 1832 (1930).

[13]) V. Reader, Biochem. J. **23**, 61, 689 (1929); **24**, 1827 (1930); O. L. Kline, C. A. Elvehjem u. E. B. Hart, Biochem. J. **30**, 780 (1936); H. v. Euler u. M. Malmberg, Biochem. Z. **278**, 351 (1935).

Man stellt Konzentrate des Vitamins her, indem man gealterte Bäckerhefe kurz mit Wasser auskocht und zentrifugiert. Das klare Filtrat wird zunächst mit Bleiacetat gefällt, der Niederschlag abgetrennt, das Filtrat mit Barytlösung behandelt und vom Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wird schnell mit Schwefelsäure neutralisiert und das Bariumsulfat entfernt. Das Vitamin wird hierauf an Kohle adsorbiert. Es wird mit salzsäurehaltigem Alkohol eluiert. Das Eluat wird bei schwach saurer Reaktion im Vakuum eingeengt.

Ein weiteres wasserlösliches Vitamin der Gruppe B, das Vitamin $B_7$, ist weder physiologisch noch chemisch genügend charakterisiert. Man nennt es auch das „enterale" Vitamin[14]).

## 5. Die Antianämiefaktoren

Blutbildende Vitamine sind die bekannten Vitamine C, $B_1$ und vor allem $B_2$. Sie haben noch nicht vollkommen erkannte Aufgaben bei der Blutbildung zu erfüllen. Zu ihnen gesellt sich das Nicotinsäureamid, dem ebenfalls eine wichtige Funktion bei der Blutstillung zukommt.

Außer diesen Faktoren kennt man noch eine Reihe von Stoffen, die zur normalen Blutbildung von Mensch und Tier unbedingt notwendig sind. Man muß unterscheiden zwischen Mangelerscheinungen, die entweder nur bei Tieren oder nur bei Vögeln auftreten, und solchen, die wieder nur gewisse Säugetiere zeigen. Die Anzahl dieser für nötig gehaltenen Blutfaktoren schwankt bei den verschiedenen Forschern, da über die Art der verschiedenen Mangelkrankheiten keine einheitliche Auffassung besteht. Die Tabelle 23 gibt eine Zusammenstellung des heutigen Standes der Forschung über diese Teilfaktoren.

Tabelle 23

| Faktor | Mangelerscheinung | Notwendig für |
|---|---|---|
| 1. Hämogen | Perniciosa (Knochenmarksperre) | Mensch, Affe, Schwein |
| 2. Xanthopterin (Uropterin) | Abnahme der Erythrocytenzahl | Mensch, Ratte |
| 3. Reifungsfaktor | Panmyelophthise | Mensch, Hund, Ratte |
| 4. Tropenanämieverhutender Faktor | Megalocytose | Mensch, Affe |
| 5. Anämiefaktor der Tauben | Sichelzellenanämie | Tauben |

[14]) E. Centanni, C., **1935 II**, 244; E. Montevecchi, C., **1935 II**, 244.

Man rechnet diese Faktoren zu der wasserlöslichen Gruppe der B-Vitamine. Tatsächlich bestehen zwischen den einzelnen Faktoren dieser Gruppe die engsten Beziehungen. Die oben genannten Faktoren sind ohne die Gegenwart von anderen B-Vitaminen unwirksam. Zum Teil kommen sie auch immer in Gesellschaft mit den anderen B-Vitaminen vor. Die besten Quellen für die Vitamine $B_{1-6}$ und für das Antipellagravitamin sind gleichzeitig auch die besten Quellen für die Blutfaktoren, und zwar Leber und Hefe.

Am besten aufgeklärt ist die perniziöse Anämie. Bei dieser Krankheit treten Magenstörungen auf, weiter Blutveränderungen sehr schwerer Art wie schwere Anämie, Leukopenie, Retikulocytenkrisen und hyperchromes Blutbild, schließlich neurologische Erscheinungen und Muskelkrämpfe, die dann mit dem Tode enden. Diesen Krankheitserscheinungen ähnlich sind die Bilder der tropischen Sprue, die ebenfalls zu den Anämien vom Perniziosatyp gehört.

W. B. Castle[15]) hat als erster die Entstehung dieser Anämien auf das Fehlen einer normalerweise im Magen vor sich gehenden Reaktion zwischen einer von der Magenschleimhaut sezernierten Substanz (intrinsic factor) und einem mit der Nahrung zugeführten Stoff (extrinsic factor) zurückgeführt. Bei dieser Reaktion entsteht der eigentliche Perniziosaschutzstoff. Der im Organismus wirkende Blutbildungsstoff, das Hämon, entsteht also aus einem vitaminartigen Stoff, dem Hämogen (extrinsic factor) durch die Einwirkung eines Ferments, der Hämogenase (intrinsic factor)[16]). Der Mechanismus dieser Reaktion ist noch unbekannt. Es ist aber wahrscheinlich kein proteolytischer Vorgang.

Vitamincharakter hat von diesen drei Stoffen nur das Hämogen. Es ist ein hitze- und alkalibeständiger Stoff, in Wasser und Alkohol gut löslich. Es ist kein Eiweißkörper. Das Hämogen findet sich in Hefe, Weizen, Gerste, Reiskleie, weiter im Säugetierorganismus jenseits des Magendarmkanals, vor allem in Muskulatur, Leber, Niere und Gehirn. Das Hämon selbst scheint nur in der Leber vorzukommen. Durch eine postmortale Reaktion entsteht es in größerer Menge. Die Leber scheint außer Magen und Dünndarm das einzige Organ zu sein, das Hämogenase enthält. Dort erfolgt die jeweilige Umwandlung in Hämon. Das Hämon selbst bedarf zu seiner Funktion der Mitwirkung von Ty-

---

[15]) W. B. Castle u. Mitarb., Science **82**, 159 (1936); J. amer. med. Assoc. **92**, 1830 (1929); **96**, 1198 (1931); **98**, 1620 (1932).

[16]) F. Reimann u. Mitarb., Z. klin. Med. **129**, 559 (1936).

rosin und eines Purinkörpers. Dieser scheint identisch zu sein mit einem in der Natur recht weit verbreiteten Farbstoff, dem Xanthopterin[17]) ($C_{19}H_{18}O_6N_{16}$), dem Farbstoff der Flügel des Zitronenfalters und des Wespenleibes. Der Farbstoff kommt auch im Harn (Uropterin) und in der Leber, aber auch in Klee und Kartoffeln vor. Die ganzen Verhältnisse liegen noch sehr unklar.

Im folgenden soll ein Verfahren zur Isolierung von Uropterin aus Harn beschrieben werden[18]): 90 g Frankonit KL werden mit 250 ccm Phosphatpuffer (pH = 7,6) verrührt und der Schlamm unter ganz schwachem Saugen auf eine horizontal genau ausgerichtete Nutsche (12,3 cm Durchmesser) aufgegossen. Nach Ausbildung der Adsorptionsschicht wird das Konzentrat der Harnfarbstoffe aus 5000 Liter Harn, in 500 ccm Phosphatpuffer gelöst, aufgegossen. Man saugt anfangs mit einem Unterdruck von 5 cm Wassersäule, später mit 30 cm. Zum Schluß kann höheres Vakuum angeschlossen werden. Nach dem Durchlaufen der Farbstofflösung wird mit 250 ccm Phosphatpuffer und danach mit 800 ccm sekundärem Natriumphosphat ($^1/_{15}$ mol.; pH = 8,3) gewaschen. Man eluiert mit Boratpuffer (pH = 9,2); nach etwa 300 ccm Puffer erscheint im Filtrat der erste Farbstoff. Die Abgrenzung der Uropterinfraktion (im allgemeinen 200 ccm) ist sehr schwierig. Sie ist gegenüber den andren Farbstoffen durch ihre größere Leuchtkraft im Tageslicht ausgezeichnet und durch Stärke der Rotfluorescenz unter der Quarzlampe. Beim Stehen über Nacht im Eisschrank krystallisieren gelbe Warzen aus (etwa 30 mg). Sie bestehen aus einem Salz des Uropterins mit einem Bestandteil der Bleicherde.

Der Flügelfarbstoff des Zitronenfalters ist mit dem Uropterin identisch. Aus 1000 Faltern erhält man etwa 1,5 g vorgereinigten Farbstoff.

Uropterin (Xanthopterin) ist eine sechsbasische Säure der Formel $C_{19}H_{20}O_7N_{16}$. Sein Molekül enthält drei Purinkerne. Es bildet einen rotgelben Farbstoff. Die stark mineralsaure Lösung fluoresziert rot, die schwach saure Lösung gelbgrün. In neutraler Lösung zeigt der Farbstoff blaue Fluorescenz, in alkalischer Lösung aber grüne. In Wasser und Alkohol schwer löslich, wird er von verdünnten Säuren und Alkalien leicht gelöst. Gegen Licht ist der Farbstoff beständig. Xanthopterin gibt die Murexidprobe, ist reversibel reduzierbar und bildet ein charakteristisches Bariumsalz.

---

[17]) R. Tschesche, Z. angew. Chem. **51**, 349 (1938).
[18]) W. Koschara, Z. physiol. Chem. **240**, 127, 147 (1936).

NH—CO
HN= C C:N
NH — C:N
CH — C₄H₈O₄ (NH)

NH—C.OH
HN= C C.NH
NH—C.N
CH

HO.C—NH
NH.C C=NH
HC
N.C—NH

Xanthopterin (Uropterin)

Das Tyrosin entfaltet seine Aktivatoreigenschaft nicht als solches, sondern erst nach Oxydation zu einem roten Farbstoff, dem Hallochrom, das in niederen Sectieren vorkommt und als Zwischenprodukt bei der Melaninbildung in Pflanzen eine wichtige Rolle spielt.

CH
O:C C — $CH_2$
O:C C CH.COOH
CH NH

Hallochrom

## 6. Das Vitamin H

Das Hautschutzvitamin H steht in naher Beziehung zu den Vitaminen der Gruppe B, besonders aber zum Vitamin $B_6$. Über seine Chemie ist nichts bekannt. Es kommt in Hefe und Leber, aber auch in Gehirn, Niere und Milch vor. Es scheint an Eiweiß gebunden zu sein. Es ist in dieser Form weder fett- noch wasserlöslich und wird erst bei der Darstellung frei. Die Tabelle 24 gibt eine Zusammenstellung des Vorkommens.

Tabelle 24

| Vorkommen | Wirksamkeit Leber = 1 |
|---|---|
| Leber | 1 |
| Niere | 1 |
| Hefe | 0,5 |
| Kuhmilch im Winter | 0,025 |
| „ im Sommer | 0,08 |
| Frauenmilch (Sommer und Winter) | 0,025 |
| Kartoffeln | 0,4—0,5 |
| Casein | 0,4 |
| Hirn | 0,2 |
| Bananen | 0,1 |
| Mehl, Reis, Getreide | 0,05—0,1 |

Ratten, die mit einer Kost gefüttert werden, die alle bekannten Vitamine enthält, erkranken an charakteristischen Hautschäden, bei denen aber alle Pellagrasymptome fehlen. Hautentzündungen, Haarausfall und Schuppenbildung mit gelblichen Borken treten auf. Beim Menschen entsprechen die Krankheitserscheinungen denen der Seborrhöe (Talgfluß). Man kann auch Eiterungen und Abszesse beobachten. Möglicherweise ist auch die krankhafte Glatzenbildung eine Folge dieser Avitaminose. Zufuhr des Vitamins heilt die Krankheit in kurzer Zeit.

Vitamin H ist in Wasser und in Alkohol gut löslich. In Benzol, Aceton und Äther ist es unlöslich. Gegen Oxydation ist es sehr empfindlich, ist aber hitzestabil (180°). Durch ultraviolettes Licht wird es schnell zerstört. Ebenso durch salpetrige Säure, Ketone, Formaldehyd und Benzoylchlorid. Durch Phosphorwolframsäure wird es gefällt. Da es im elektrischen Feld wandert, dürfte es eine saure Aminosäure sein.

Jede Darstellung des Vitamin H hat zuerst die Freilegung aus der unlöslichen Form zum Ziele. Dies geschieht zweckmäßig durch Papainverdauung der Ausgangssubstanz oder durch Kochen mit Säure. Aus Hefe kann man die Freilegung auch durch Autolyse unter Toluol erreichen. Man kann aber auch erst die gebundene Form des Vitamins an Tierkohle adsorbieren, diese mit Pyridin-Methanol-Wasser-Gemisch eluieren, einengen und dann mit Schwefelsäure kochen. Durch Zusatz von Alkohol werden Begleitsubstanzen ausgefällt. Das Filtrat wird im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Eisessig ausgezogen. Man fällt Verunreinigungen mit Essigester und dampft das Filtrat ein. Auf diese Weise erhält man hochwirksame Präparate[19]).

Das DRP. 645 414 extrahiert Leber und verdaut mit Papain. Die erhaltene Lösung wird mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wird mit Baryt zerlegt und die dunkelbraune Lösung 24 Stunden elektrodialysiert. Man arbeitet mit 220 Volt Gleichstrom. Der Strom durchläuft 10 hintereinander geschaltete, durch Pergamentmembranen getrennte Zellen, in denen verschiedene pH eingestellt sind. Das Vitamin reichert sich in den Zellen mit pH = 2,3—3,8 an (Engl. Pat. 459 524).

Das DRP. 651 435 beschreibt Extrakte aus Leber oder Niere nach vorheriger Säurehydrolyse der Organe durch Erhitzen auf 120° im Autoklaven. Die Methode ist auch durch eine Reihe weiterer Patente geschützt: Engl. Pat. 463 698; Jug. Pat. 12 465; Norw. Pat.

[19]) P. György, J. of biol. chem. Proc. 119, 43 (1937); L. E. Booher, J. biol. Chem. 119, 223 (1937); H. T. Parsons, J. G. Lease u. E. Kelly, Biochem. J. 31, 424 (1937); Fr. Schultz, Med. u. Chem. 3, 143 (1936).

57108; Schwed. Pat. 91043; Schweiz. Pat. 188733; Ungar. Pat. 115688.

5 kg möglichst fein zerhackte Nieren werden mit 25 kg 4proz. Salzsäure verrührt und im Autoklaven bei 140° und 3,5 atm. unter Rühren 3 Stunden erhitzt. Die Lösung wird abgetrennt und der Rückstand der gleichen Behandlung unterworfen. Die vereinigten Lösungen werden konzentriert und einige Tage im Eisschrank stehen gelassen. Hierauf wird von den ausgeschiedenen Begleitstoffen filtriert. Das Filtrat enthält das gesamte Vitamin H der Ausgangssubstanz.

Man kann statt Nieren auch Leber verwenden, die nach der Extraktion mit 40proz. Alkohol mit 3 Teilen Wasser im Rührautoklaven 6 Stunden bei 160° und 6 atm. erhitzt wird. Die Lösung wird heiß abgesaugt und der Rückstand der gleichen Behandlung unterworfen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum auf ein geringes Volumen eingeengt und mit Salzsäure angesäuert ($p_H = 3$). Von den ausgeschiedenen harzartigen Stoffen wird filtriert und im Vakuum eingedampft.

## 7. Das Antipneumonie-Vitamin J

H. v. Euler[20]) beobachtete, daß Meerschweinchen, die nach Skorbut mit Vitamin C geheilt worden waren, häufig an Pneumonie erkrankten. Tiere, welche nicht mit reiner Ascorbinsäure, sondern mit dem Saft von schwarzen Johannisbeeren, Vogelbeeren und Hollunderbeeren behandelt worden waren, wurden von der Pneumokokkeninfektion verschont. Auch der Saft von Zitronen oder Apfelsinen genügte zur Abwehr der Infektion. Es muß also im Saft der genannten Früchte ein Antipneumonie-Faktor neben Vitamin C vorhanden sein. v. Euler nannte diesen Stoff Vitamin $C_2$. Im Paprika ist dieses Vitamin nicht enthalten. Über die Chemie dieses Stoffes ist nichts bekannt.

## 8. Der Faktor W

Ratten, die mit allen Vitaminen außer denen der Gruppe B versorgt werden und welche Aneurin, Lactoflavin und die an Fullererde adsorbierten andren Vitamine der B-Gruppe erhalten, bleiben im Wachstum zurück. Erst durch Zugabe des Filtrates vom Fullererde-Adsorbat kann normales Wachstum gewährleistet werden. Der Filtratfaktor W (Vitamin $B_w$) kommt in reichlicher Menge in Leber, Nieren, Fleisch, Fischfleisch, Fischrogen, Weizenkeimen, Hefe und Milch vor. Über seine

[20]) H. v. Euler, H. Söder u. M. Malmberg, Z. Hyg. **116**, 672 (1935).

chemische Natur ist nichts bekannt. Er ist jedenfalls verschieden von Nicotinsäure und $B_6$. In Phenolen und Anilin ist er löslich. In Äther unlöslich. Der Faktor scheint schwach saurer Natur zu sein[21]).

## 9. Die Lactationsvitamine

Zur normalen Lactation sollen zwei Vitamine $L_1$ und $L_2$ notwendig sein[22]). Sie kommen in Bäckerhefe vor. Das Adsorbat an saurer Tonerde enthält nur $L_2$. Näheres über diese Stoffe ist nicht bekannt.

## 10. Der Anti-graue-Haare-Faktor $B_x$

Bei Ratten und Füchsen kann durch geeignete Kost Ergrauen der Haare erzielt werden. Die Erscheinung beginnt 8—10 Wochen nach der festgelegten Kostform und steht in keinem Zusammenhang mit dem Vitamin-C-Mangel. Durch Zufuhr von $B_w$ und $B_x$ kann sie geheilt werden Es scheinen hier Beziehungen zur Pantothensäure vorzuliegen[23]). Das Vitamin kommt in Leber und Hefe vor.

## 11. Das Permeabilitäts-Vitamin (Citrin)

Szent-Györgyi[24]) und seine Mitarbeiter fanden, daß C-Vitamin-reiche Paprika-Präparate und auch Zitronensaft bei der hämorrhagischen Diathese eine bessere Wirkung entfalten als das reine Vitamin C. Sie schlossen daraus, daß am Heileffekt dieser Naturstoffe außer dem Vitamin C noch ein oder mehrere andere Stoffe beteiligt sein müssen, die für die Aufrechterhaltung der normalen Gefäßundurchlässigkeit unentbehrlich sind. Den ungarischen Forschern gelang es bald darauf, aus Zitronen und Paprika einen krystallisierten Stoff darzustellen, den sie Vitamin P nannten.

Die physiologischen Ergebnisse von Szent-Györgyi konnten in der Folge von verschiedenen Forschern nicht bestätigt werden[25]). Es

---

21) C. A. Elvehjem, Erg. Vit. u. Hormonforsch. **1**, 140 (1938); D. V. Frost u. C. A. Elvehjem, J. biol. Chem. **128**, 23 (1939).

22) W. Nakahara, Science **87**, 372 (1938); W. Nakahara u. Mitarb., C. **1939 II**, 3721, 3722.

23) G. Lunde u. H. Kringstad, Naturwiss. **27**, 755 (1939); Z. physiol. Chem. **257**, 201 (1939).

24) Szent-Györgyi u. Mitarb., Dtsch. med. Wschr. **1936**, 1325; Nature **138**, 27, 798, 1057 (1936); **139**, 326 (1937).

25) H. Lotze, Dtsch. med. Wschr. **1937**, 477; Th. Moll, Klin. Wschr. **1937 II**, 1653.

wurde aber von anderer Seite wiederholt auf eine Heilwirkung des Vitamins P hingewiesen, so daß sich ein abschließendes Urteil nicht bilden läßt. Auf jeden Fall wird man das Vitamin P als einen wichtigen Diätfaktor betrachten müssen, der die Heilwirkung des Vitamins C als eine Art Aktivator unterstützt und seinen Einfluß auf die normale Funktion der kleinsten Gefäße beim Menschen ausübt.

Das Vitamin ist kein einheitlicher Körper. In der Form, wie es von Szent-Györgyi dargestellt wurde, bildet es blaßgelbe Krystalle. Es besteht aus einem isomorphen Gemisch zweier Flavanon-Glykoside, des Hesperidins und des Eriodictins, von denen das erste der Menge nach überwiegt. Als dritter Bestandteil scheint in kleinen Mengen ein weiteres Flavanon-Glykosid, das Quercitrin, im Vitamin P vorzukommen.

Hesperidin hat die Formel $C_{28}H_{34}O_{15}$. Es ist das Rutinosid des Hesperetins und hat folgende Zusammensetzung:

Hesperidin

Es bildet blaßgelbe Prismen vom Schmp. 255°. In Wasser, Äther, Chloroform und Aceton ist es unlöslich, dagegen löslich in Laugen und in Pyridin. Es neigt zur Bildung übersättigter Lösungen. In Alkohol ist es nur wenig löslich. Das optische Drehungsvermögen beträgt $[\alpha]_D = -74{,}3°$ (in Pyridin). Die Absorptionsmaxima in alkalischer Lösung liegen bei 287 und 360 m$\mu$. Das Hesperidin ist aus Pflanzenextrakten mit Bleiacetat fällbar. Durch Oxydation geht es leicht in chinoide gelbe Körper über. Mit starker Natronlauge gibt das Vitamin eine rote Färbung und eine grüne auf Zusatz von Eisenchlorid.

Das Eriodictin hat die Formel $C_{27}H_{32}O_{15}$ und unterscheidet sich vom Hesperidin durch Ersatz der $OCH_3$-Gruppe durch eine Hydroxylgruppe. Es ist in Wasser und Alkohol leicht löslich. Bisher konnte es nur amorph erhalten werden. Die Absorptionsmaxima liegen bei 263 und 320 m$\mu$. Fällbarkeit und Farbreaktionen sind die gleichen wie die des Hesperidins.

Das Vitamin P kommt vor allem in der Zitrone vor und hier beson-

ders in der Schale. Weitere gute Quellen sind die Grapefruit und die Apfelsine, die aber nur wenig enthält. Paprikafrüchte enthalten ebenfalls viel Vitamin P. Andere Quellen sind bisher nicht bekannt.

Im Organismus scheint das Vitamin in komplexer Bindung an Eiweiß vorzuliegen.

## 12. Sonstige Vitamine

Eine Reihe anderer, als Vitamine angesprochene Stoffe ist in den letzten Jahren in der Literatur erschienen. Da sowohl die physiologischen als auch die chemischen Verhältnisse bei diesen als Wirkstoffe sehr zweifelhaften Stoffen ganz ungeklärt sind, soll hier von einer Beschreibung abgesehen werden. Die meisten dieser „Vitamine" dürften sich als unreine Formen der bekannten Vitamine herausstellen. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß es der Forschung nicht gelingen könnte, den einen oder den anderen dieser Stoffe doch noch als Vitamin zu definieren. Es ist auch wahrscheinlich, daß in Zukunft heute noch ganz unbekannte Vitamine entdeckt werden.

# Vitamine in Biologie und Medizin*)

Die rasche Aufklärung der chemischen Natur der meisten Vitamine hat das Interesse für diese Stoffe in ungeheurem Maße bei der Medizin und der allgemeinen Biologie geweckt. Die unleugbaren Erfolge der Vitaminanwendung in der klinischen Medizin haben der Praxis einen starken Impuls zur Sammlung weiterer Erfahrungen gegeben, die sich fruchtbar auf die verschiedenen Zweige der Heilkunde auszuwirken beginnen.

Die Erkenntnisse, die durch die Entdeckung von Wechselbeziehungen zwischen Vitaminen und Hormonen gewonnen wurden, gestatten heute nicht nur ein erleichtertes Verständnis vieler pathologischer Vorgänge, sondern darüber hinaus ein tieferes Eindringen in die Erkenntnis der Lebensvorgänge überhaupt. Dazu kommt, daß vielen Vitaminen außer ihrer spezifischen Hauptfunktion als „Wirkstoff" zusätzlich eine Heilwirkung zukommen kann, die sie als Therapeutica von größter Wichtigkeit und Bedeutung erscheinen läßt.

Die anfängliche scharfe Trennung der Wirkstoffe in die pflanzlichen Vitamine und die tierischen Hormone ließ sich mit der Zeit nicht mehr aufrechterhalten, als man erkannte, daß manche Vitamine nicht

*) Zum tieferen Eindringen in diese Materie wird das Buch empfohlen: W. Stepp, J. Kühnau u. H. Schröder, Die Vitamine und ihre klinische Anwendung, Stuttgart, F. Enke 1939, dem ich hier weitgehend folge.

nur in der Pflanze, sondern auch in einigen tierischen Organismen aufgebaut werden können. Andererseits gibt es Hormone, die auch in den Pflanzen gebildet werden und dort wichtige Aufgaben für den normalen Ablauf des Stoffwechsels oder der Zellteilung usw. zu erfüllen haben. So wird das Vitamin C von manchen Tieren, z. B. Ratten, im eigenen Organismus synthetisiert, so daß dieses Vitamin bei diesen Tieren direkt als Hormon zu bezeichnen wäre. In Pflanzen wiederum kennt man das sonst als Hormon bezeichnete Follikelhormon, wo es wichtige Aufgaben für die Blütenbiologie zu erfüllen hat. Aber nicht nur die rein biologische Trennung zwischen Vitaminen und Hormonen ist heute unstatthaft, sondern auch die rein chemische Trennung erscheint angesichts der vielfältigen Beziehungen in Aufbau, Verhalten und Eigenschaften vieler Vitamine und Hormone undurchführbar. Es sei hier nur an das Carotin erinnert, das als Provitamin für den Menschen ebenso wichtig ist wie als Carotin selbst, das im Sexualsystem eine sehr bedeutsame Rolle zu spielen scheint (Vorkommen von Vitamin A und Carotinoïden im Ovarium und in der Hypophyse). Weiter sei hier an die Tatsache erinnert, daß Nicotinsäureamid und Aneurin als Wirkgruppe von körpereigenen Fermenten bestimmte Aufgaben zu erfüllen haben. Auf jeden Fall bestehen zwischen beiden Stoffgruppen zahlreiche genetische, synergistische und antagonistische Beziehungen.

Nach H. v. Euler sind die Vitamine und die Hormone allgemeine Katalysatoren der Lebensvorgänge, die ohne sie nicht in normaler Weise ablaufen können. Diese Katalysatoren sind im Organismus an einen hochmolekularen Träger (Eiweißkörper) gebunden, wodurch sie zelleigen gemacht werden und so unmittelbar in den Ablauf der Zellvorgänge eingreifen können. Wirkgruppe und hochmolekularer Träger zusammen wären dann als Enzym zu bezeichnen. Vitamine und Hormone könnte man nach v. Euler als Vitazyme und Hormozyme bezeichnen, während man die Gesamtheit der Wirkstoffe als Ergozyme charakterisieren könnte.

Nachdem eine prinzipielle Trennung zwischen Vitaminen und Hormonen als besonderen Stoffklassen abgelehnt werden muß, empfiehlt es sich, eine systematische Trennung durchzuführen, um aus praktischen Gründen jede der beiden Wirkgruppenabteilungen gesondert behandeln zu können. Im allgemeinen wird man sagen können, daß die Vitamine diejenigen Wirkstoffe sind, die der tierische (menschliche) Organismus aus irgendeinem Grunde nicht selbst aufbauen kann, so daß er wie bei vielen anderen Substanzen (Aminosäuren usw.) auf die Zufuhr von außen angewiesen ist. Aber auch hier kann die Grenze nicht scharf gezogen

werden, weil der tierische Organismus immerhin imstande ist, aus ganz anderen Vorstufen das eigentliche Vitamin im eigenen Organismus aufzubauen. Diese Vorstufen, die Provitamine, müssen allerdings von außen zugeführt werden. Die eigentlichen Quellen sind die Pflanzen; doch gibt es Vitamine, die erst auf dem Umwege über Pflanzenfresser dem tierischen Organismus nutzbar gemacht werden. In seltenen Fällen kann der tierische Organismus aus Bausteinen, die von der Pflanzennahrung stammen, das Vitamin aufbauen. Der Weg führt aber auch hier mit größter Wahrscheinlichkeit über den Stoffwechsel niederer Lebewesen, Bakterien, die in diesem Falle in Symbiose mit ihrem Wirtstier leben. Solche bakterielle Synthesen erfolgen bei dem Vitamin $B_1$ im Pansen der Rinder und bei dem Vitamin K im Darm der Säugetiere. Die hier berührte Frage ist eine Grenzfrage der Biologie überhaupt, denn es besteht immerhin die Möglichkeit, daß auch die Hormone nichts anderes von den Vitaminen unterscheidet, als ihre Genese aus pflanzlichen Bausteinen durch den Organismus mit oder ohne Beihilfe von sehr niederen Lebewesen. Solche niedrigste Lebensformen können „körpereigen" sein, d. h., sie können in manchen Zellen isoliert dort ihre lebenswichtige Aufgabe erfüllen, ohne daß sie sonst in Erscheinung treten. Durch die Erkenntnis der Virus als anscheinend besonders einfach zusammengesetzter „Lebewesen" ist immerhin die Möglichkeit einer solchen Symbiose gegeben.

Wie schon gesagt, muß in den meisten Fällen das Vitamin oder dessen Vorstufe dem tierischen Organismus von außen her mit der Nahrung zugeführt werden. Der gewöhnliche Gang der Nahrung per os durch den Magendarmkanal bedingt die Resorption der Vitamine oder deren Vorstufen oder Bausteine durch den Darm. Diese Resorption kann nun aus zwei Gründen ungenügend sein: 1. Aus Mangel an dem Vitamin in der Nahrung selbst. 2. Aus gestörter Resorption infolge krankhafter Veränderungen des Magendarmkanals oder durch anormale Zersetzung der Wirkstoffe durch eine veränderte Darmflora. In beiden Fällen wird der Organismus nach Verbrauch der gespeicherten Vitaminbestände in seinen lebenswichtigen Funktionen gestört und es entwickeln sich die Erscheinungen der Vitamin-Mangelkrankheiten (Hypovitaminosen).

Im ersteren Falle wird eine verstärkte Zufuhr des in der Nahrung fehlenden Vitamins eine Heilung herbeiführen, die in ihren raschen und sicheren Auswirkungen oft genug ans Wunderbare grenzt. Es sei nur an die direkt mit den Augen verfolgbare Heilung von Pellagrakranken durch Zufuhr von Nicotinsäureamid gedacht. Nach 20—24 Stunden sind

die ärgsten Erscheinungen dieser Krankheit verschwunden. Diese alimentären Hypovitaminosen sind an sich einfache Fälle, die, wenn sie nicht veraltet sind und infolge der engen Wechselbeziehungen zwischen den Vitaminen und den Hormonen schon nachteilige und tiefgreifende Störungen des synergistischen und antagonistischen Zusammenwirkens dieser Wirkstoffe nach sich gezogen haben, mit Sicherheit und einfach zu behandeln sind.

Liegen jedoch Störungen der Resorption durch krankhafte Veränderungen des Magendarmkanals vor, dann sind die Bedingungen verhältnismäßig viel schwerer. Es wird entweder eine Beseitigung der mangelhaften Resorptionsfähigkeit angestrebt werden müssen, oder aber eine Injektion des Vitamins subkutan oder intravenös erfolgen müssen.

Viel häufiger als ausgesprochene Vitamin-Mangelkrankheiten mit vollständigem Fehlen des einen oder des anderen Vitamins in der Nahrung sind die Krankheiten, die sich aus dem schwankenden Gehalt an Vitaminen in der Nahrung ergeben. Solche „Vitamin-Unterernährungen" sind vielleicht heute noch auch bei hochzivilisierten Völkern — und gerade bei solchen, wegen der überfeinerten Ernährungsweise — recht häufig. Die moderne Ernährungslehre hat sich deshalb in den letzten Jahren sehr intensiv mit diesen Fragen beschäftigt. Die Ergebnisse und ihre Auswirkung auf die Ernährungsweise lassen es erwarten, daß in absehbarer Zeit eine grundlegende Besserung auf diesem Gebiete eintreten und so manche Krankheit verschwinden wird, die im Grunde nichts anderes ist als die Folge einer dauernden Unterernährung an Vitaminen. Die ganze Angelegenheit kann im Interesse einer umfassenden Volksgesundung nicht hoch genug eingeschätzt werden.

In diesem Zusammenhang soll in kurzen Hinweisen auf den täglichen Vitaminbedarf des Menschen eingegangen werden. Die angegebenen Zahlen gelten aber, dies sei ausdrücklich gesagt, nur annähernd und nur bei normaler Resorptionsfähigkeit des Magendarmkanals. Aber auch der normale Gesundheitszustand des Menschen spielt für den Bedarf an einzelnen Vitaminen eine große Rolle, da bei vielen Infektionskrankheiten der Bedarf z. B. an Vitamin C bedeutend gesteigert ist.

Vitamin A: Die optimale Tagesdosis an Carotin beträgt etwa 3—5 mg.

Vitamin D: Optimale Tagesdosis 0,01 mg. Der Bedarf des Säuglings und des Kleinkindes beträgt als prophylaktische Tagesdosis 0,002 mg kryst. Vitamin $D_2$. Bei vorhandener Rachitis muß das Minimum 0,01 mg betragen.

Vitamin E: Der Bedarf für den Menschen ist noch unbekannt. Da das Vitamin in allen grünen Gemüsen und in pflanzlichen Fetten vorkommt, dürfte bei entsprechender Ernährung kein Mangel an diesem Vitamin vorhanden sein. Es ist jedoch zu bedenken, daß bei Gravidität ein beträchtlich erhöhter Bedarf vorliegt.

Vitamin K: Die normale Tätigkeit der Darmflora sorgt im allgemeinen für eine ausreichende Versorgung mit diesem Vitamin. Größenordnungsmäßig müssen täglich etwa 50 000 Dam-Einheiten dem Organismus zugeführt werden, um K-Mangel-Symptome zu verhindern. Dies entspricht ungefähr 2 mg Vitamin K.

Vitamin C: Bedarf des Säuglings mindestens 5 mg kryst. Ascorbinsäure; Erwachsene 50 mg.

Vitamin $B_1$: Bedarf schwankt zwischen einem Minimum von 0,5 mg kryst. Vitamin $B_1$ und einem Maximum von 1—2 mg.

Vitamin $B_2$: 1—3 mg kryst. Lactoflavin.

Vitamin-$B_2$-Komplex: Bedarf im einzelnen und am gesamten Komplex nicht bekannt. Der tägliche Bedarf des Menschen an Nicotinsäureamid scheint zwischen 50—100 mg zu liegen. Der Aderminbedarf dürfte zwischen 1—2,5 mg täglich betragen.

Vitamin H: Der Tagesbedarf an diesem Vitamin steigt mit dem Körpergewicht und stellt anscheinend keine konstante Größe dar. Subkutan sind täglich etwa 18 mg notwendig. Peroral fünfmal mehr.

Vitamin P: Unbestimmt. Szent-Györgyi nennt den Tagesbedarf mit 30 mg Citrin bei intravenöser Darreichung. Es wird aber empfohlen, bei Verdacht des P-Mangels täglich 1 g Hesperidin per os zu geben.

Der Bedarf des Menschen an den anderen Vitaminen ist nicht bekannt.

Das Bild der Vitamin-Mangelkrankheiten wird noch verwickelter durch den Umstand, daß durch die Zufuhr übermäßiger Mengen mancher Vitamine Krankheitserscheinungen hervorgerufen werden können. So konnte Hopkins gleich zu Beginn der Vitaminforschung zeigen, daß sehr große Mengen von Lebertran schädliche Wirkungen ausüben. Man fand, daß die Zufuhr großer Mengen von Vitamin A oder von Vitamin D toxisch wirkt und sehr schwere Schädigungen des Organismus nach sich zieht.

Der von einigen Forschern angenommene Synergismus und Anta-

gonismus zwischen einzelnen Vitaminen wurde von A. Scheunert[1]) in einer ausführlichen und gründlichen Arbeit widerlegt. Es gibt keine Wechselbeziehungen zwischen den Vitaminen, die irgendwie im normalen Stoffwechsel eine Rolle spielen und den Vitaminbedarf grundlegend verändern könnten. Die durch übergroße Zufuhr von Vitamin D hervorgerufenen Schädigungen stehen in keinen Beziehungen zu einem Mangel an anderen Vitaminen; für den normalen Stoffwechsel kann man aus solchen extremen Verhältnissen nichts entnehmen. Eine Steigerung der Vitaminzufuhr über die optimalen Dosen hinaus zieht keinerlei Veränderungen im Nährstoff- oder Energieverbrauch oder sonstige Folgen nach sich, es sei denn, es werden derart übertriebene Dosen gereicht, daß toxische Wirkungen erfolgen. Ebensowenig vermag die Wegnahme eines Vitamins aus der Kost Wirkungsveränderungen der verbleibenden Vitamine herbeizuführen.

Im allgemeinen wird man ja mit der pflanzlichen Nahrung, wenn sie genügend variiert wird, den notwendigen Vitaminbedarf decken können. Voraussetzung hierfür ist allerdings eine zweckmäßige Zubereitung der Nahrung. Es ist hier an das sog. „Totkochen" gedacht, das bei der oft übermäßig langen Kochdauer unter Luftzutritt zu einer fast vollkommenen Zerstörung der empfindlicheren Vitamine führt. Gerade die Vitamine aber, die an und für sich in der Nahrung nicht gerade häufig sind, sind auch die empfindlichsten. Das Weggießen des Kochwassers von Gemüsen bedingt einen weiteren, sehr beträchtlichen Vitaminverlust. Kurzes Kochen, am besten nur Dämpfen der Gemüse, ist die geeignetste Methode zur Erhaltung des Vitamingehaltes. Von sehr ungünstigem Einfluß auf den Vitamingehalt der Nahrungsmittel ist weiterhin das Lagern und Konservieren. Es ist daher am besten, womöglich nur frisches Gemüse und Obst zu verwenden und den Kochvorgang so schonend wie möglich zu gestalten. Für die Ernährung, besonders der Kinder, ist wichtig, daß die Sommermilch und Sommerbutter bedeutend vitaminreicher ist als die Wintermilch, bzw. -Butter.

Während die zweckmäßige gemischte Nahrung des Gesunden in gewissen Grenzen eine ausreichende Versorgung mit Vitaminen gewährleistet, wird die Krankenkost, Diät, eine oft nicht genügend beachtete Quelle für viele Vitamin-Mangelkrankheiten bilden. Hier wird man, wenn die Zufuhr einer gemischten Kost nicht möglich ist, auf die Vitamintherapie durch Zufuhr von reinen Vitaminpräparaten zurückgreifen müssen. Die pharmazeutische Industrie, welche den „Vitamin-

[1]) Naturwiss. 28, 297 (1940).

rummel“ von früher längst überwunden hat und heute auf streng wissenschaftlicher Grundlage arbeitet und dies Hand in Hand mit dem Chemiker und Mediziner tut, erzeugt eine große Anzahl sehr wertvoller und einwandfreier Vitaminpräparate. Zu ihrer restlosen Ausnützung wird allerdings noch viel Arbeit zu leisten sein und hier soll auch der praktische Arzt sich einsetzen, der in sehr vielen Fällen die klinische Anwendung der Vitamine immer noch nicht kennt oder als nicht vollwertig ansieht, weil ihm die chemischen und biologischen Grundlagen fehlen. Gerade die harte Zeit eines Krieges aber ist der gegebene Augenblick, hier alle Hebel in Bewegung zu setzen, daß die Ergebnisse der chemischen, biologischen und klinischen Forschung der Bevölkerung zugute kommen.

## Verzeichnis des buchmäßigen und zusammenfassenden Schrifttums über Vitamine

### Buchveröffentlichungen

Ammon, R. u. Dirscherl, W., Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander. Leipzig 1938.

Berg, R., Die Vitamine. Leipzig 1927.

Bomskov, Chr., Methoden der Vitaminforschung. Leipzig 1935.

Bredereck, H. u. Mittag, R., Vitamine und Hormone. Leipzig 1938.

Funk, C., Die Vitamine. München 1924.

Gstirner, F., Chemische Vitaminbestimmungsmethoden. Stuttgart 1939.

Helm, E., Die Reindarstellung des Vitamin C aus Zitronen- und Orangenschalen. Dresden 1935.

Karrer, P. u. Wehrli, H., 25 Jahre Vitamin-A-Forschung. Halle 1933.

Lettré, H. u. Inhoffen, H. H., Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe. Stuttgart 1936.

Lunde, G., Vitamine in frischen und konservierten Nahrungsmitteln. Berlin 1940.

Medical Research Council Report, Vitamins. London 1932.

Morton, R. A., The Application of Absorption Spektra. London 1934.

Reichstein, T. u. Demole, V., Übersicht über Chemie und biologische Wirkung der Ascorbinsäuregruppe (Vitamin C), E. Barell-Festschrift. Basel 1936.

Rudolph, W., Vitamin C und Ernährung. Stuttgart 1939.

Rudy, H., Vitamine und Mangelkrankheiten. Berlin 1936.

Seitz, F., Darstellung von Vitaminpräparaten. Leipzig 1939.

Sherman, H. C. u. Smith, S. L., The Vitamins. New York 1931.

A. Scheunert u. M. Schieblich, Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. II. Berlin 1933.

Sivadjian, J., La chimie des vitamines et des hormones. Paris 1938.

Stepp, W., Kühnau, J. u. Schroeder, H., Die Vitamine und ihre klinische Anwendung. 4. Aufl. Stuttgart 1939.

Zechmeister, L., Die Carotinoide. Berlin 1934.

Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung. Hrsg. von L. Ruzicka u. W. Stepp, I. Bd. Leipzig 1938; II. Bd. 1939.

## Zusammenfassende Darstellungen in Handbüchern und anderen Sammelwerken

Albers, H., Handbuch der Biochemie, Erg.-Bd. 3, 1936.

Aron, H. u. Klinke, W., Handbuch der Biochemie, Erg.-Bd. 3, 1936.

Evans, H. M. u. Burr, G. O., The antisterility fat-soluble vitamin E. California Univ. Mem. 8, 1927.

Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Hrsg. von E. Abderhalden, Wien 1937. Abt. 5. Heft 8. Mit Beiträgen von: F. Laquer, Th. Wagner-Jauregg, A. Lüttringhaus, F. Verzar, B. v. Euler und H. v. Euler, F. Benz, A. Scheunert.

Ernährungslehre, Hrsg. von W. Stepp, Berlin 1939. Mit Beiträgen von H. Rudy, H. Schroeder, A. Pillat, W. Schüffner, J. Kühnau, W. Mollow, H. Schönfeld, P. Vogt-Moller und H. Wendt.

A. Scheunert, Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. I. Berlin 1933.

# Verzeichnis der Vitaminpatente

In diesem Verzeichnis sind alle Patente aufgeführt, die seit Beginn der Vitaminforschung bis Anfang Juni 1940 in den Kulturstaaten ausgelegt worden sind. Das Verzeichnis ist nach Vitaminen geordnet. Innerhalb der einzelnen Gruppen stehen die Deutschen-Reichs-Patente an erster Stelle, dann folgen die Länder nach alphabetischer Reihenfolge. Patente, die auch für andere Länder angemeldet wurden, sind unter dem Ursprungsland verzeichnet. Nach der Nummer folgt der Titel der Patentschrift und der Patentinhaber.

Vitamin D (einschließlich Lebertrangewinnung und Lebertranpräparate):

DRP. **468 801,** Norw. P. **48 892:** Unvollständige Verseifung vitaminhaltiger alkoholischer Extrakte. *A. W. Owe, Oslo.*

— **472 814,** Engl. P. **266 905,** Franz. P. **612 337:** Verseifung von Leberölen und Extraktion der festen Seifen mit Baumwollsamenöl. *A. W. Owe, Oslo.*

— **484 993,** Amer. P. **1 678 454,** Canad. P. **247 722,** Dän. P. **34 400,** Engl. P. **208 145, 227 121, 227 122,** Franz. P. **579 734,** Schwed. P. **68 816:** Extraktion des Lebertrans mit 95proz. Alkohol, Verseifen des Extr. mit Natronlauge, Fällung der Fettsäuren als Kalkseifen und Extraktion dei Kalkseifen mit Aceton. *University Patents Corp. New York* und *T. F. Zucker, New York.*

— **492 281:** Extraktion von zerkleinerten Fischlebern mit saurem Alkohol. *Jul. Wolf, Hamburg.*

— **495 450:** Veresterung von bestrahltem Ergosterin mit Bernstein- oder Phthalsäureanhydrid. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **499 524,** Amer. P. **1 896 191,** Canad. P. **319 141,** Engl. P. **296 093, 316 803,** Franz. P. **659 448,** Holl. P. **26 619,** Österr. P. **130 789,** Schweiz. P. **143 164,** Ung. P. **99 275:** Bestrahlung von Ergosterin bei Temperaturen über 70°. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **501 844,** Zusatz-P. **647 542,** Canad. P. **290 997, 316 944,** Engl. P. **362 023,** Schwed. P. **69 380,** Schweiz. P. **129 124:** Extrakte mit antirachitischer Wirkung aus Getreidewurzelkeimen. *Matro G.m.b.H., Heilbronn a. N.*

— **501 954:** Zusatz-P. zu DRP. Nr. **495 450.**

— **502 726:** Fernhaltung des bei der Bestrahlung auftretenden Ozons durch einen Luftstrom. *H. Geffken* und *H. Richter, Leipzig.*

— **508 503,** Amer. P. **1 919 297:** Haltbare Lösungen der fettlöslichen Vitamine. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **517 499,** Amer. P. **1 724 706** und **1 840 756,** Engl. P. **322 465:** Extraktion des Ergosterins nach Autolyse der Hefe unter Anwendung von Essigester. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **520 853:** Zusatz-P. zu vorstehendem.

— **523 257:** Anwendung einer Glimmentladungsröhre mit Außenelektroden. *A.G. für elektrische Industrie, Berlin.*

— **526 141:** Bestrahlung von Nahrungs- und Arzneimitteln unter Verwendung eines elliptischen Reflektors. *H. Geffken* und *H. Richter, Leipzig.*

— **530 877:** Kalkspatplatte als Filter für das U.-V.-Licht. *F. Heinemann, Berlin.*

— **540 701:** Extraktion von Lebertran in 95proz. Essigsäure und Ausschütteln der Essigsäure mit Petroläther. *J. Avellar de Loureiro, Lissabon.*

— **542 667:** Ergosterin aus Heferückständen. *E. Merck, Darmstadt.*

DRP. **545 080:** Vitaminisieren von Milch unter Abtrennung der zu bestrahlenden Sahne. *H. Geffken* und *H. Richter, Leipzig.*

— **545 268,** Amer. P. **1 690 091,** Schweiz. P. **135 606:** Extraktion des Unverseifbaren aus den Seifen von Lebertran mit Dichloräthylen. *J. K. Marcus, New York.*

— **549 110,** Engl. P. **292 188,** Tsch. P. **38 456:** Wässerig-alkalische Vorbehandlung der Hefe und von anderen Pilzen unter Druck. *Ges. f. chem. Industrie, Basel.*

— **553 915:** Wässerig-alkalische Vorbehandlung von Hefe ohne Druck im offenen Gefäß. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **556 716:** Kolloidale wässerige Lösungen von bestrahltem Ergosterin. *E. Merck, Darmstadt.*

— **560 146** und Zusatz-P. **567 648:** Extraktion vitaminhaltiger Öle mit heißem konz. Alkohol und Behandlung des Extraktes mit Aceton. *A.G. f. medizin. Produkte, Berlin.*

— **564 401** und Zusatz-Pte. **608 277, 647 522,** Amer. P. **1 796 134:** Geruchloses Vitaminisieren durch indirekte Bestrahlung mit Reflektorblechen. *F. Kielwein, Cannstatt.*

— **564 736** und Zusatz.-P. **566 744:** Vorrichtung zur Bestrahlung von Milch und Luftabschluß mittels einer Glimmlichtlampe. *Dr. E. Latacz, Berlin.*

— **565 900** und Zusatz-P. **576 021,** Engl. P. **370 748:** Abtrennung der unwirksamen Bestrahlungsprodukte des Ergosterins mittels Malein- bzw. Citraconsäureanhydrid. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **567 383:** Bestrahlung von Monoergosterylestern zweibasischer Säuren. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **568 900** und Zusatz-P. **577 170:** Vorrichtung und Verfahren zur Bestrahlung dickflüssiger Extrakte. *K. Hembd* und *Vitaminfabrik, Hameln.*

— **568 901:** Das Unverseifbare aus Lebertran wird in Petroläther gelöst und die Lösung mit 90proz. Alkohol gewaschen. *J. D. Riedel & de Haen A.G., Berlin.*

— **572 491:** Anwendung einer Niederdruckquecksilberdampflampe zur Bestrahlung von Milch. *A. Schindler, Leipzig.*

— **577 531:** Vitaminisieren von Milch unter Abtrennung der zu bestrahlenden Sahne. *G. Kersten* und *O. K. Schultz, Grebenstein.*

— **583 791:** Bestrahlung von Lumisterin. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **593 395:** Lebertranemulsion. *Pentosinwerke, Altona.*

— **598 027:** Ultraviolett bestrahltes Bier. *H. v. Sandt, Dortmund.*

— **603 088,** Amer. P. **2 030 377:** Darstellung eines physiologisch hochwirksamen Umwandlungsproduktes aus ultraviolett bestrahltem Vitamin D. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **605 960:** Bestrahlung von Nähr- und Futtermitteln mit U.-V.-Licht. *H. Steenbock, Madison, Wisconsin.*

— **622 373:** Bestrahlung von Wollfett als Hautcreme nach besonderem Verfahren. *Leo-Werke, Dresden.*

— **623 657:** Lösungen von Vitamin A und D, die beim Verdünnen mit Wasser haltbare Emulsionen geben. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **624 231,** Amer. P. **2 070 117:** Hydrierung von Tachysterin. (A. T. 10-Patent.) *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **626 776:** Extraktion fettlöslicher Vitamine mit Wasser in Gegenwart von gallensauren Salzen. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **632 783:** Bestrahlung von Milch mit Quecksilberdampflampen. *Hanovia, Newark.*

— **634 146:** Bestrahlung von Ergosterin mit U.-V.-Licht bestimmter Wellenlänge. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*

— **634 760,** Amer. P. **2 076 901:** Behandlung von Fischlebern mit alkoholischer Kalilauge, Lösen in verd. Alkohol und Extrahieren der Vitamine mit Äther. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

DRP. 686 227, Engl. P. 484 482, Franz. P. 768 217, Holl. P. 87 919, Schweiz. P. 174 468: Verseifung von Lebertran mit alkoholischem Alkali. *E. Merck, Darmstadt.*

— 642 261, Canad. P. 365 555, Dän. P. 51 481, Engl. P. 486 718, Österr. P. 148 790, Schwed. P. 89 261, Ung. P. 114 706: Haltbare Lösungen der fettlöslichen Vitamine. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— 642 307, Belg. P. 379 415, Franz. P. 717 067, Poln. P. 17 737, Tsch. P. 41 820: Leicht emulgierbares Trockenpräparat der fettlöslichen Vitamine. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— 642 759: Bestrahlung von Dihydroergosterin. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— 648 326: Vorrichtung zur Bestrahlung von Milch in Flaschen. *E. Freitag, Berlin.*

— 659 882: Abtrennung des antirachitischen Vitamins aus Naturstoffen. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— 672 000: Gewinnung von Fetten mit hohem Gehalt an Vitamin D. *Gebr. Stollwerk A.G.*

— 673 853: Umwandlungsprodukte des Ergosterins. *Kurt Wolff, Bielefeld.*

Amer. P. 1 519 779: Sterinfreier Lebertran durch Auspressen von frischen Fischlebern in gefrorenem Zustande. *E. M. Johnson, Evansville.*

— 1 552 549, Franz. P. 611 760, Engl. P. 258 704: Lebertrantabletten. *Gross Laboratorium, Chicago.*

— 1 633 711: Mischungen von Lebertran mit Trockenhefe. *Vitamin Food Co. Inc. New York.*

— 1 680 818, Engl. P. 236 197, Franz. P. 587 187: Bestrahlung von Nähr- und Futtermitteln mit U.-V.-Licht. *H. Steenbock, Madison, Wisconsin.*

— 1 681 120: Bestrahlung von Lipoidextrakten aus Pilzen. *Ch. M. Richter, Chicago.*

— 1 682 818: Apparatur zur Bestrahlung von Nahrungsmitteln mit U.-V.-Licht. *F. C. Beardslee, Los Angeles.*

— 1 762 105, Engl. P. 356 793: Bestrahlung von Sterinen und Fetten mit ultravioletten und infraroten Strahlen. *Ch. M. Richter, Chicago.*

— 1 771 348, Canad. P. 325 818: Bestrahlung von sterinhaltigen Extrakten mit Strahlen von 302,2 m$\mu$. *Ch. M. Richter, Chicago.*

— 1 775 548, Canad. P. 311 719: Umkrystallisieren von Rohergosterin aus Aceton-Äthergemisch. *Johnson & Co., Evansville.*

— 1 786 095, Canad. P. 242 901, Engl. P. 220 697, Franz. P. 566 695, Schweiz. P. 106 039: Extraktion der Calciumseifen aus Lebertran mit Petroläther. *K. Takahashi, Japan.*

— 1 796 027: Extraktion von getrockneten, gepulverten Fischlebern mit Aceton, Äther, Chloroform und Alkohol. *Health Prod. Corp. USA.*

— 1 842 929, Canad. P. 296 692: Extraktion der Hefe mit Aceton und Verseifung des gewonnenen Hefefettes mit alkoholischem Alkali. *Johnson & Co., Evansville.*

— 1 845 370: Emulsion aus Lebertran, Wasser, Akaziengummi, Calciumphosphat und Syrup. *T. B. Wagner, New York.*

— 1 845 818: Vitamin-A- und D-haltige Pflanzenextrakte werden mit vitaminenthaltenden getrockneten Pflanzen getrocknet und tablettiert. *R. S. Prince, Westfield.*

— 1 862 315: Emulsion aus Lebertran, Wasser und Magnesiamilch. *W. S. Merell.*

— 1 871 135: Bestrahlung von Getreide. *Wisconsin Alumni Res. Found.*

— 1 871 136: Bestrahlung von Produkten, die reich an unverseifbaren Lipoiden sind. *Wisconsin Alumni Res. Found.*

— 1 873 942, Engl. P. 283 557, Österr. P. 125 486, Russ. P. 18 378: Bestrahlung von Ergosterin, bis eine Probe durch Digitonin nicht mehr fällbar ist. *E. Merck, Darmstadt.*

— 1 879 762: Schutz der fettlöslichen Vitamine durch eine Umhüllung, welche Hydrochinon enthält. *E. R. Squibb & Son, New York.*

Amer. P. **1 880 977** und **1 880 978:** Behandlung von Cholesterin mit Photokatalysatoren zur Gewinnung antirachitisch wirksamer Produkte. *Sun-a-Sured Corp., Delaware.*

— **1 893 317:** Ergosterin aus Aspergillus niger. *Acetol Prod. Inc., Delaware.*

— **1 894 158:** Bestrahlung von Nahrungsmitteln mit U.-V.-Licht bestimmter Wellenlänge. *National Carbon Co., New York.*

— **1 897 039:** Aluminiumseifen aus Lebertran und Extraktion derselben mit Alkohol. *E. R. Squibb & Son, New York.*

— **1 912 440:** Alkoholisch-alkalische Vorbehandlung der Hefe. *Standard Brands Inc. Dover.*

— **1 919 369:** Verseifung von Lebertran mit konz. alkohol. Alkali und Extraktion der festen Alkaliseifen. *E. R. Squibb & Son, New York.*

— **1 925 559:** Hochvakuumdestillation von Lebertran in dünner Schicht bei 160°. *Eastman Codak Comp., Rochester.*

— **1 928 397:** Bestrahlung von Getreide nach dem Reinigen und Schälen. *Quaker Oats Comp., Chicago.*

— **1 935 042:** Extraktion der alkohol. Lösung von Unverseifbaren mit Maisöl. *E. R. Squibb & Son, New York.*

— **1 941 097:** Wässerig-alkalische Vorbehandlung der Hefe unter Druck. *Standard Brands Inc., Dover.*

— **1 947 315:** Verseifung von Lebertran mit wässerigem Alkali in Gegenwart eines unverseifbaren Fettlösungsmittels. *Walter O. Snelling, Allentown.*

— **1 947 432:** Schutz fettlöslicher Vitamine durch Hydrochinon. *State Board of Agric., Michigan.*

— **1 954 065:** Vorrichtung zur Bestrahlung unter gleichzeitiger Kühlung. *I. H. Bragg, Washington.*

— **1 955 554,** Canad. P. **333 281,** Engl. P. **394 408:** Bestrahlung von Ergosterin in bestimmten Lösungsmitteln. *Standard Brands Inc., New York.*

— **1 964 867:** Mischungen von Lebertran mit getrockneter Hefe. *Vitamin Food Inc., New York.*

— **1 980 971,** Canad. P. **351 916:** Bestrahlung ergosterinhaltiger Stoffe mit bestimmten Wellenlängen. *H. G. Campsie, Hollywood.*

— **1 982 028:** Bestrahlung ergosterinhaltiger Stoffe mit weichen Röntgenstrahlen. *General Development Lab. Inc., New York.*

— **1 982 029:** Bestrahlung ergosterinhaltiger Stoffe mit U.-V.-Licht bestimmter Länge; Bleiacetatfilter. *General Development Lab. Inc., New York.*

— **1 983 654:** Behandlung des Unverseifbaren von Lebertran mit sauerstofffreier Kohle. *E. R. Squibb & Son, New York.*

— **1 983 944:** Bestrahlung mit Kathodenstrahlen in Gegenwart von Katalysatoren. *American Res. Prod. Inc., Delaware.*

— **1 984 858,** Belg. P. **406 765,** Canad. P. **352 654,** Dän. P. **51 817,** Engl. P. **441 518,** Franz. P. **782 314,** Norweg. P. **56 369:** Verseifung von Lebertran mit alkohol. Alkali und Extraktion des Unverseifbaren mit Dichloräthylen im Gegenstrom. *Health Prod. Corp., Newark.*

— **1 988 969:** Produkt aus gelben Palmöl mit Zusatz von bestrahltem Ergosterin. *S.M.A. Corporation, Cleveland.*

— **2 007 108,** Canad. P. **367 386,** Engl. P. **463 655:** Vitaminhaltige Dauerpräparate. *H. Bresnick, New York.*

— **2 007 765:** Bestrahlung von Nahrungsmitteln. *Sun-a-Sured Inc., Albany.*

— **2 010 792:** Dispergierung von Sterinen in Wasser. *A. M. Silvan, Brooklyn.*

— **2 015 282:** Bestrahlung durch radioaktive Stoffe. *Amer. Res. Prod. Inc., Delaware.*

— **2 017 942:** Behandlung von Fischlebern zur Gewinnung von Vitaminen A und D. *S. Botcharsky* und *S. Teitelbaum, London.*

— **2 022 464:** Emulsion aus Lebertranextrakt, bestrahltem Ergosterin, Akaziengummi, Traganth, Bicarbonat und Wasser. *L. Hall* und *C. L. Griffith, Chicago.*

Amer. P. **2 026 895**: Unvollständige Verseifung von Lebertran. *Silmo Chem. Comp., Vineland.*
— **2 030 792,** Engl. P. **469 150,** Holl. P. **38 894:** Haltbare Lösungen der fettlöslichen Vitamine. *Winthrop. Chem. Co., New York.*
— **2 051 257:** Schutz der fettlöslichen Vitamine durch Hydrochinon. *Parke, Davies & Co., Detroit.*
— **2 057 399:** Bestrahlung von Hefe mit U.-V.-Licht. *Wisconsin Alumni Res. Found., Wisconsin.*
— **2 106 779, 780, 781, 782:** Herstellung von Vitamin D. *Nutrition Research Laborator. Inc., Chicago.*
— **2 112 200:** Aktivieren von Cholesterin durch Bestrahlen. *Eli Lilly & Co., Indianopolis.*
— **2 117 100:** Herstellung antirachitischer Stoffe. *E. I. du Pont de Nemours & Co.*
— **2 128 198:** 22.23-Dihydroergosterin. *Winthrop Chemical Co. Inc., New York.*
— **2 161 882:** Vitaminkonzentrate. *J. A. Patch, Stoneham, USA.*
— **2 167 144:** Haltbare Vitaminemulsion. *Johnson & Co., Evansville.*
— **2 167 272:** Krystallisiertes Ergosterin. *Gener. Mills Inc., Delaware.*
— **2 173 629:** Extraktion, Konzentration und fraktionierte Trennung von Vitamin A und D aus Lebertran. *Research Corp., New York.*
— **2 175 340:** Vitamin-D-Anreicherung im Bier. *New Discoveries Inc., Chicago.*
— **2 179 560:** Vitamin-D-Konzentrate. *General Mills, Inc.*
— **2 179 917:** Vitaminhaltige Fischöle mit künstlich gesteigertem Jodgehalt. *Henry Brinton, Coatesville.*
— **2 180 051:** Entfernung von oxydierenden Gasen aus vitaminhaltigen Ölen. *Distillat. Prod., Inc. Rochester.*

Austral. P. **27 887/30,** Canad. P. **316 140,** Poln. P. **23 343:** Bestrahlung von Ergosterin mit U.-V.-Licht von bestimmter Wellenlänge. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*
— **30 247/30:** Nährmittel aus bestrahlten Weizenkeimlinge u. dgl. *F. F. Tisdall, Toronto.*
— **346/31,** Belg. P. **376 368,** Franz. P. **708 548:** Vorrichtung zur Bestrahlung von Ergosterinlösungen. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*
— **18 069/34:** Bestrahlung von Milch u. dgl. *E. Ch. Berndt* und *H. Motzer, Creighton.*
— **20 902/35:** Hochvakuumdestillation von Butterfett. *Imp. Chem. Indust. Ltd., London.*

Belg. P. **372 102,** Franz. P. **723 537:** Extraktion zerkleinerter Fischlebern mit Alkohol, Verseifen und Extrahieren der Kalkseifen mit Aceton. *G. Dubois, Belgien.*
— **378 778,** Engl. P. **385 626,** Franz. P. **714 827,** Schweiz. P. **154 660:** Bestrahlung von Ergosterin mit U.-V.-Licht bestimmter Wellenlänge. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*
— **386 419:** Bestrahlung von Lebensmitteln mit U.-V.-Licht bestimmter Wellenlänge unter Durchleiten eines inerten Gases. *Soc. Anon. des Usines Remy, Brabant.*
— **408 099:** Extraktion von Lebertran mit einem Alkoholgemisch. *P. A. Coppens, J. Hekman, v. d. Hulst, Rotterdam.*
— **415 556,** Engl. P. **464 066,** Franz. P. **815 545,** Schweiz. P. **198 920:** Bestrahlung des Unverseifbaren aus Enteneiern. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*
— **415 578:** Bestrahlung der unverseifbaren Lipoide wirbelloser Tiere. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*
— **416 160:** Reinigung von Ergosterin durch Veresterung und darauffolgende Adsorption. *Philips Glühlampenfabriken, Holland.*
— **425 830:** Stabilisieren von Ergometrin. *N. V. Orgachemia, Oss, Holland.*

Canad. P. **306 278:** Bestrahlung mit Elektronen hoher Geschwindigkeit. *Canad. General Electric Co., Toronto.*
— **312 977:** Einarbeiten von bestrahltem Ergosterin in Kaugummi. *J. H. Quine, Rochester.*

Canad. P. **314 669**, Engl. P. **369 638**, Franz. P. **709 423**: Vitamin-D-haltige Dauerpräparate. *Trop. Vitamin Co. Inc.*
— **316 272**: Bestrahlung von Getreide nach dem Schälen. *O. K. Schultz, Grebenstein.*
— **320 466**: Präparate aus Vitamin D und Preßhefe. *R. F. Light* und *C. N. Frey, New York.*
— **320 984**, Franz. P. **697 367**, Poln. P. **18 528**, Schwed. P. **73 865**: Bestrahlung ergosterinhaltiger Stoffe. *T. Reiter, D. R.*
— **327 292**: Bestrahlung von pulveris. ergosterinhaltigen Stoffen. *M. Johnson & Co., Evansville.*
— **333 422** und **333 424**: Vitaminreiches Brot und Verwendung bestrahlter Weizenkeime. *National Foods Ltd., Toronto.*
— **347 456**: Vitaminhaltige Dauerpräparate. *B. Goldberg, Detroit.*

Engl. P. **207 545**: Mischungen von Lebertran mit Pflanzenteilen oder Pflanzensäften, oder mit Kakao. *P. M. Leyerdahl, Christiania.*
— **214 238**, Norw. P. **41 744**: Behandlung und Lagerung der fettlöslichen Vitamine unter Ausschluß von Luftsauerstoff. *E. R. Squibb & Son, New York.*
— **243 907**: Extraktion der Seifen von Lebertran mit vegetab. Ölen und Fetten. *Aarhus Oliefabrik, Aarhus.*
— **267 410**: Verseifung von Lebertranrückständen. *H. Iscovesco, Paris.*
— **270 296**: Bestrahlen von Ölen und Fetten unter Ausschluß von Sauerstoff. *H. Tillisch, Harburg.*
— **283 265**, Franz. P. **622 912**: Unvollständige Verseifung von Lebertran. *K. Kawai, Tokio.*
— **285 083**: Bestrahlung von Estern des Cholesterins *E. Merck, Darmstadt.*
— **286 665**, Norw. P. **46 190**, Österr. P. **118 123**: Bestrahlung von Ergosterin in alkohol. Lösung in Gegenwart von Eosin. *E. Merck, Darmstadt.*
— **292 926**: Nahrungsmittel werden mit Elektronen hoher Geschwindigkeit behandelt. *Brit. Th. Houston Co., Ltd., London.*
— **293 735**: Mischungen aus Lebertran und Trockenhefe. *Vitamin Food Co. Inc., New York.*
— **295 757**: Gewinnung bestrahlter Sterine und Fette aus Hefe. *J. S. McLean, London.*
— **298 585**: Bestrahlung von Milch oder Milchpulver auf einem Förderband. *Dry Milk Co., New York.*
— **314 942**, Begl. P. **360 691**, Canad. P. **308 898**: Bestrahlung von unverseifbaren Lipoiden. *H. Steenbock, Madison.*
— **321 992**, Ital. P. **279 208**, Norw. P. **48 181**, Schweiz. P. **141 692**: Bestrahlung von Ergosterin in Lösungsmitteln, die eine Schutzwirkung ausüben. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— **324 503**: Bestrahlungsapparatur für Milch. *Patent-Treuhand Ges. f. elektr. Glühlampen, Berlin.*
— **325 470**: Bestrahlung von Milch in dünner Schicht. *J. O.* und *N. V. Hickmann, London.*
— **334 950** und Zusatz-P. **361 343**, Amer. P. **1 925 489**: Extraktion der Lebertranseifen durch Einblasen von Benzol. *E. Langefeldt & E. Hellerud, Oslo.*
— **335 277**: Bestrahlung von Ergosterin mit U.-V.-Licht bestimmter Wellenlänge. *Soc. des Usines Chim., Rhone-Poulenc.*
— **346 682**: Bestrahlung von Milch mit ultravioletten und infraroten Strahlen. *V. C. From, Paris.*
— **381 342**: Behandlung von zerkleinerten Fischlebern mit verdünntem Alkali. *K. Kawai, Tokio.*
— **382 060**: Hydrieren von Leberölen unter 100°. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— **396 206**: Ergosterinreiche Hefe durch Belüftung. *Intern. Yeast Co., London.*
— **401 095**: Behandlung der Fischlebern mit Dampf, Einfrieren und Überziehen mit Paraffin. *Abbott Labor., Chicago.*

Engl. P. **412 585:** Geflügelfutter aus gebräuchlichen Futtermitteln und Vitamin D. *Philips Glühlampenfabriken, Eindhoven.*

— **425 998,** Holl. P. **40 792:** Emulsion aus Lebertran, Vitaminzusatz, Paraffin, Sesamöl, Traganth, Gummiarabicum und Wasser. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **433 930,** Norw. P. **56 098:** Gewinnung von Vitamin D aus Lebertran. *A. S. Ferrosan, Kopenhagen.*

— **433 938,** Österr. P. **142 706,** Poln. P. **21 279,** Tsch. P. **51 930,** Ung. P. **110 723:** Haltbare Lösungen der fettlöslichen Vitamine. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **441 545:** Extraktion von Fischlebern mit Gemischen aus Fettlösungsmitteln und Alkohol. *B. A. Rewald, London.*

— **449 888** Geflügelfutter aus gewöhnlichen Futtermitteln und bestrahlter Hefe. *Standard Brands Inc., New York.*

— **452 442,** Holl. P. **42 009:** Hochvakuumdestillation und geringe Hydrierung von Lebertran. *Imperial Chem. Indust. Ltd., London.*

— **464 395,** Franz. P. **811 920:** Hochvakuumdestillation und teilweise Verseifung von Lebertran. *E. W. Fawcett, D. Whittaker* und *Imperial Chem. Indust. Ltd., London.*

— **465 547:** Verseifung von Lebertran mit verdünntem Alkali. *K. Kawai, Tokio.*

— **471 994:** Provitamin D enthaltende Präparate. *N. V. Philip, Eindhoven, Holland.*

— **476 134,** Franz. P. **811 766:** Hochvakuumdestillation der fettlöslichen Vitamine in Gegenwart organischer Stoffe mit etwas niedrigerem Siedepunkt. *E. Codak Comp., USA.*

— **477 283:** Provitamin D enthaltende Präparate. *N. V. Philip, Eindhoven, Holland.*

— **482 880:** Gewinnung von Vitamin D. *E. Codak Co., Rochester.*

— **485 452:** Herstellung antirachitischer Stoffe aus Cholesterinen durch Oxydation und Bestrahlen. *E. J. du Pont de Nemours & Co.*

— **489 083:** Aktivierung von Cholesterin. *Eli Lilly & Co., Indianopolis, USA.*

— **491 007:** Antirachitisch wirkende Stoffe. *Codak Ltd., London.*

— **491 653:** Abtrennung der antirachitischen Komponente von bestrahltem 7-Dehydrocholesterin. *E. Merck, Darmstadt.*

— **500 195:** Gewinnung von Vitaminen, Sterinen usw. durch Destillation. *Codak Ltd., London.*

— **504 051:** Extraktion von Sterinen, besonders Ergosterin, aus Hefe, Schimmel und anderen Pilzorganismen. *Intern. Yeast Co. Ltd., London.*

Franz. P. **666 959:** Vorrichtung zur Bestrahlung von Milch. *Osa, Soc. Particip. Ind., Schweiz.*

— **767 191,** Holl. P. **37 302:** Verseifung von Lebertran mit alkohol. Alkali, Extraktion des Unverseifbaren. *British Drug Houses, London.*

— **667 660:** Vorrichtung zum Bestrahlen und Pasteurisieren von Milch. *A. Tribout, Frankreich.*

— **677 010:** Vorrichtung zum Bestrahlen von Getränken mit U.-V.-Licht. *J. Siepe, Frankreich.*

— **779 847:** Bestrahlung von Grieß und Mehl. *Ch. Devret & Cie., Frankreich.*

— **796 101,** Belg. P. **412 799:** Emulsionen aus Zucker, Lecithin und bestrahltem Ergosterin. *M. Ernotte, Frankreich.*

— **800 592:** Kolloidale wässerige Lösung von Vitamin $D_2$ als Zusatz zu Nahrungsmitteln. *Soc. Franc. de Sucre.*

— **812 734,** Engl. P. **480 885,** Norw. P. **59 148:** Hochvakuumdestillation vitaminhaltiger Öle in Gegenwart von Hydrochinon. *E. Codak Comp., USA.*

Holl. P. **32 096,** Engl. P. **406 629,** Franz. P. **787 284:** Bestrahlte Ergosterinlösungen werden mit Öl oder Fett versetzt. *N. V. Philips Glühlampenfabriken, Eindhoven.*

Holl. P. **35 579,** Amer. P. **1 904 751,** Austr. P. **1772/31,** Belg. P. **371 967,** Engl. P. **343 528,** Franz. P. **700 312** und **40 142,** Österr. P. **148 370:** Bestrahlung von Ergosterin mit U.-V.-Licht bestimmter Wellenlänge. *N. V. Philips Glühlampenfabriken, Eindhoven.*

— **37 435:** Hochvakuumdestillation vitaminhaltiger Öle und Fette. *Imperial Chem. Indust. Ltd., London.*

— **47 225:** Stabilisieren von Ergometrin. *N. V. Orgachemie, Oss, Holland.*

Norweg. P. **55 128:** Vitaminhaltige Dauerpräparate. *O. Ch. Pedersen.*

— **61 592:** Anreicherung von Vitamin D im Knäckebrot durch Bestrahlen. *K. Ed. Lungstrom, Nockeberg, Schweden.*

Österr. P. **117 621** (Zusatz-P. zu **112 425**): Vorbehandlung der Hefe mit festem $CO_2$. *Ges. f. chem. Industrie, Basel.*

— **118 248:** Vorrichtung zur Bestrahlung von Flüssigkeiten. *Patent-Treuhand Ges. f. elektr. Glühlampen, Berlin.*

— **118 762,** Engl. P. **316 264:** Bestrahlung von Nährmitteln und therapeutisch wirksamen Stoffen unter Zusatz von Mineralstoffen. *O. Ried, Wien.*

— **119 210,** Schweiz. P. **141 690:** Bestrahlung von Ergosterinlösungen in Stickstoffatmosphäre. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **131 289:** Extraktion der Vitamine in Gegenwart von naszierendem Wasserstoff. *H. Oleoth, Wien.*

— **140 190,** Schweiz. P. **174 074:** Gewinnung einer ergosterinreichen Hefe. *W. Halden, Kroisbach.*

— **156 814:** Provitamin-D-Präparate und Futtermittel mit antirachitischen Eigenschaften. *N. V. Philips, Eindhoven.*

Poln. P. **11 156:** Bestrahlung von ergosterinhaltigen Pflanzenauszügen. *Przemyslowo-Handlowe Zaklady Chem. L. Spiess.*

— **13 573:** Bestrahlung von Hefe ohne Luftzutritt im elektromagnetischen Feld. *W. Kurczynsko, Lodz.*

Schwed. P. **67 152:** Bestrahlung im Vakuum in dünner Schicht. *K. A. Wessblad, Stockholm.*

— **86 156:** Eßbare Stoffe werden mit Lebertran durchtränkt und mit einer Deckschicht überzogen. *Akt. Nordiske Biokemisk, Stockholm.*

— **91 698:** Herstellung eines Präparates mit latentem oder aktuellem Vitamin-D-Effekt. *N. V. Philip, Eindhoven.*

Schweiz. P. **148 479,** Amer. P. **1 824 653,** Belg. P. **362 256,** Engl. P. **334 002,** Holl. P. **27 142,** Österr. P. **120 567,** Poln. P. **17 247,** Tsch. P. **36 060,** Ung. P. **102 009:** Verhinderung der Zersetzung von bestrahltem Ergosterin durch Hydrochinon, Pyrogallol, Brenzcatechin usw. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **163 529** und **168 613,** Franz. P. **752 261:** Bestrahlung gerösteter Getreidekeime. *I. Major, Zürich.*

— **168 128:** Bestrahlung von Mehl auf einem nichtreflektierenden Förderband. *Vitag A.-G., Glarus.*

— **196 084** und Zusatz-P. **204 157:** Antirachitisch wirksame Stoffe aus 7-Dehydrositosterin durch Bestrahlung mit Ultraviolett. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

Ungar. P. **88 067:** Mit einer Tunkmasse überzogene Pillen aus Lebertran, Kakao, Kakaobutter usw. *Galster, Budapest.*

— **100 696:** Bestrahlung eines ergosterinhaltigen Hefeextraktes. *G. Feher, Budapest.*

— **101 496** und Zusatz-P. **103 414:** Bestrahlung von Hefe oder Hefeprodukten. *M. Moskowits, Budapest.*

— **104 227:** Verfahren und Vorrichtung zur Bestrahlung von Ergosterinlösungen. *A. Jendrassik, Budapest.*

## Vitamin A:

DRP. **567 688,** Schweiz. P. **155 444, 160 989, 164 541:** Zerlegung in α- und β-Carotin. Jodidmethode, Adsorptionsmethode. *R. Kuhn, Heidelberg.*

DRP. **601 070,** Amer. P. **1 998 110,** Engl. P. **418 728,** Poln. P. **21 685,** Schweiz. P. **168 185, 174 869,** Tsch. P. **54 912:** Synthese einer Verbindung, die dem Vitamin A nahesteht. *Ges. f. Chem. Industrie, Basel.*

— **612 369,** Engl. P. **393 883,** Schweiz. P. **167 166:** Reinigung von Vitamin-A-Konzentraten durch Ausfrieren von Unverseifbaren von Lebertran aus einer Lösung von Aceton oder Methanol. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **660 621:** Trennung von Komponenten des Vitamin A. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **664 088:** Vitaminpräparat. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **665 601:** Kolloidale Lösungen von Carotin mit Pektin als Schutz-Kolloid. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **670 016:** Vitaminkonzentrate. *British Drug House, Ltd., London.*

— **681 730:** Herstellung von Vitamin-A-haltigen Extrakten aus Fischölen, besonders Fischleberölen. *I. D. Riedel-E. de Haen A.G., Berlin.*

— **685 390:** Provitamin-A-haltige geklärte Pflanzensäfte, z. B. aus Möhren. *W. Schoenenberger, Magstadt-Stuttgart.*

Amer. P. **1 958 607:** Carotin aus grünen Pflanzen durch Kochen, Alkalibehandlung und Chloroformextraktion. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **1 967 121:** Carotin aus Karotten durch Kochen und Acetonextraktion. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **1 978 981:** Carotin aus Palmöl, Abscheidung als Jodid. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **1 988 031:** Carotin aus getrockneten Karotten durch Petrolätherextraktion. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **2 031 991:** Frische Pflanzenteile werden mit wasserbindenden Mitteln getrocknet und mit Petroläther extrahiert. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **2 032 006:** Verseifen von carotinhaltigen Pflanzenteilen, Trocknen der Seifen mit wasserbindenden Mitteln und Extraktion mit Aceton. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **2 032 165:** Gewinnung von technischem Carotin aus Karotten oder Spinat durch Extraktion mit Benzol. *S.M.A. Corpor., Cleveland.*

— **2 111 049:** Gereinigtes Vitamin A aus Fischleberöl. *Parke Davis & Co., Detroit.*

— **2 134 163:** Vitaminreicher Lebertran. *Hartley, A. Wentworth, Saint Andrews, Can.*

— **2 146 894:** Vakuumdestillation von Vitamin A aus Fischölen. *Destill. Prod. Inc., Rochester, USA.*

— **2 169 195:** Konzentrate von Vitamin-A-Estern. *Destill. Prod. Inc., Rochester, USA.*

— **2 170 872:** Extrahieren von Carotinoiden und Vitaminen. *David D. Peebles, Eureka.*

Canad. P. **325 820:** Vitamin A durch Bestrahlen von Sterinen. *Sun-a-Sured Corpor., Minneapolis.*

Engl. P. **306 881:** Abscheidung von Vitamin A aus wässerigen Lösungen mit Gallensäuren. *T. Shimizu, Okajama.*

— **481 189:** Ester von Vitamin A. *Codak Ltd., London.*

— **482 882, 482 883:** Gewinnung von Vitaminen, Sterinen, Hormonen, Enzymen oder ungesättigten Glyceriden aus pflanzlichen oder tierischen Ölen. *Codak Ltd., London.*

— **487 367:** Vitaminkonzentrate. *E. Codak Co., Rochester, USA.*

— **489 970:** Vitaminprodukt. *Atlantic Coast Fisheries Co., New York.*

— **490 001:** Vitaminprodukt. *Atlantic Coast Fisheries C., New York.*

— **508 469:** Vakuumdestillation von Ölen zur Vitamingewinnung. *Codak Ltd. London.*

Franz. P. **824 887:** Wachstumsförderndes Mittel für höhere Pflanzen. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **825 406:** Reinigen von Vitamin A. *E. Codak Co., Rochester, USA.*

— **825 978:** Gewinnung von fettlöslichen Vitaminen und höheren ungesättigten Glyceriden aus pflanzlichen oder tierischen Stoffen. *E. Codak Co., Rochester, USA.*

Franz. P. **884 540:** Vakuumdestillation vitaminhaltiger Öle. *E. Codak Co., Rochester, USA.*

Holl. P. **20 216:** Hydrierung von entsäuertem und mit Dampf behandeltem Lebertran mit Wasserstoff. *N. V. H. Hartogs Fabrieken, Oss, Holland.*

— **44 870:** Gewinnung vitaminreicher Fraktionen aus Ölen. *Imperial Chem. Industries Ltd., London.*

— **45 193:** Beständige, feste Vitamin-A-Präparate. *N. V. Organon, Oss, Holland.*

Russ. P. **40 982, 48 316:** Carotin aus Karottensaft. *G. J. Rosenberg, USSR.*

— **48 317:** Wässerige Carotinlösung. *F. A. Ratschewski, USSR.*

Schweiz. P. **166 607:** Entfernung der Geruchs- und Geschmackstoffe aus carotinhaltigen unverseifbaren Bestandteilen durch Wasserdampf. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

## Vitamin E

DRP. **651 474:** Krystallisierte Allophanate des Vitamins E. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

Amer. P. **1 879 784:** Unverseifbares aus Weizenkeimöl durch Verseifen mit NaOH. *E. R. Squibb & Son, New York.*

— **2 167 002:** Vitamin-E-enthaltende Zubereitungen. *U.S. Vitamin Corp., New York.*

Schweiz. P. **201 768:** Vitamin E. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **205 168:** Kondensationsprodukt aus Trimethylhydrochinon und Geranylhalogenid. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **205 362:** Zerlegung des racem. Kondensationsproduktes aus Phytylhalogeniden und Trimethylhydrochinon. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **205 529:** Tetramethyl-oxycumaran. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **206 623:** Cumohydrochinon-monophytyl-äther. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

## Vitamin K

Belg. P. **483 936:** Herstellung von Vitamin-K-Zubereitungen. *Produits Roche S.A., Brüssel.*

## Vitamin C

DRP. **397 886:** Kalkhaltiges Vitamin-C-Konzentrat aus Zitronensaft. *Eichelbaum, Berlin.*

— **470 012:** Behandlung von rohen Pflanzensäften mit Calciumcarbonat und Zitronensäure. *J. Korselt, Zittau.*

— **505 356,** Österr. P. **109 723:** Vitamin C aus den Beeren der Eberesche. *Chem. Fabrik P. Grube, Breslau.*

— **624 509,** Amer. P. **2 056 126,** Dän. P. **50 522,** Engl. P. **425 198,** Franz. P. **770 816,** Holl. P. **36 674,** Österr. P. **144 037,** Poln. P. **21 487,** Schweiz. P. **169 855, 175 263, 175 264,** Ung. P. **111 825,** Tsch. P. **57 445:** l-Xyloson mit Blausäure zum Ketonitril und Verseifen desselben zur Carbonsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **627 249:** Oxydation von d-Sorbit zur l-Xylose. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **629 728,** Franz. P. **788 014,** Österr. P. **144 047:** Verwendung der Keto-hexonsäure-methylester zum Vitaminisieren von Lebensmitteln. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **637 258:** Polygonaceenblätter als Ausgangsmaterial zur Vitamin-C-Gewinnung. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **637 448,** Engl. P. **460 586,** Poln. P. **24 856,** Ung. P. **115 994:** Synthese der Ascorbinsäure. *B. Helferich, Leipzig.*

— **639 776:** Herstellung fettlöslicher Palmitylascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

DRP. **641 639**, Belg. P. **415 751**, Dän. P. **53 887**, Engl. P. **461 790**, Franz. P. **806 926**, Schweiz. P. **188 801**, **187 254**, Ung. P. **116 608**: Überführung der Diaceton-2-keto-hexonsäure oder deren Ester in Ascorbinsäure durch Kochen mit absoluter alkohol. Salzsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **661 176**: Ascorbinsäuregewinnung aus grünen Pflanzenteilen. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **663 987**: Haltbare Lösungen von Ascorbinsäure in Ampullen. *E. Merck, Darmstadt.*

— **676 011**: Ascorbinsäure aus Diaceton-2-keto-1-gulonsäure. *E. Merck, Darmstadt.*

— **683 954**: Zusatz-P. zu Nr. **637 448**, *B. Helferich, Leipzig; I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **684 725**: Ascorbinsäure. *E. Merck, Darmstadt.*

Amer. P. **1 746 657**: Vitaminpräparat aus Tomatensaft. *W. J. Kemp, Kokomo.*

— **1 886 931**: Vitaminpräparat aus Zitronen und Orangen. *Vitamin Comp. of America.*

— **2 076 400**: Phosphorsäure als Stabilisator des Vitamin-C-Gehaltes. *Kraft-Phenyx Cheese Corp., Chicago.*

— **2 078 237**: Gladiolenblätter als Ausgangsmaterial zur Vitamin-C-Gewinnung. *E. Merck, Darmstadt.*

— **2 117 777**: Doppelsalze aus ascorbinsaurem Calcium und Calciumsalzen anderer Polyoxymonocarbonsäuren. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **2 132 662**: Aminsalze der Ascorbinsäure. *Abbott Laborator., North Chicago, USA.*

— **2 140 989**: Molekülverbindungen von Ascorbin- und Isoascorbin-säure mit Chinin oder Chinidin. *Winthrop Chemical Co. Inc., New York.*

— **2 150 140**: Ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **2 159 214**: Doppelsalze aus Calciumascorbat und Calciumsalicylat. *S. Klein, Newark, USA.*

— **2 165 151** und **2 165 184**: Ascorbinsäure und ihre Isomeren. *Ch. Pfizer & Co., USA.*

Austr. P. **20 233/34**: Stabilisierung des Vitamin-C-Gehaltes durch Phosphorsäure. *Kraft-Phenyx Cheese Corp., Chicago.*

— **20 993/35**: Vitaminpräparat aus Zitronensaft oder Ascorbinsäure und Lebertran unter Zusatz von Milch als Emulgator. *Nestle & Anglo Swiss Cond. Milk Comp.*

Belg. P. **422 061**: Haltbare Lösungen von Histidinascorbat. *S. A. Produits Roche, Forest-Brüssel.*

Canad. P. **365 108**: Gladiolenblätter als Ausgangsmaterial zur Vitamin-C-Gewinnung. *E. Merck, Darmstadt.*

— **375 573**: Verbindungen der Ascorbinsäure. *Frances Ruskin, New York.*

Engl. P. **443 901**, Amer. P. **2 073 207**, Franz. P. **794 221**: Ascorbinsäure durch Oxydation von 1-Sorbose mit Salpetersäure und Enolisierung. *Haworth, Hirst, Jones* und *Smith, Birmingham.*

— **469 335**: Haltbare Injektionslösungen von Ascorbinsäure. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **486 055**: Haltbares flüssiges Vitaminpräparat aus Ascorbinsäure und Propandiol als Lösungsmittel. *Eli Lilly & Co., Indianopolis, USA.*

— **486 898**: Gewinnung vitaminartiger Stoffe aus Pflanzen, besonders solchen der Citrusarten. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **488 784**: Metallverbindungen der Ascorbinsäure. *Simon Lyon Ruskin, Manhattan, USA.*

— **495 675**: Wasserlösliche Calciumdoppelsalze der Ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **499 798** und **499 840**: Molekülverbindungen von Ascorbin- und Isoascorbinsäure mit Chinin oder Chinidin. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **506 730**: Vitaminkonzentrate. *Andre Edouard Briod, Belleville,* und *Bion Rose East, East Orange.*

Franz. P. **532 298** (Zusatz-P. **26 034** und **27 271**), DRP. **415 313**, Engl. P. **168 903**, Norweg. P. **37 040**, Schweiz. P. **103 774**: Gewinnung von Vitaminen aus frischen Pflanzensäften durch Behandlung mit Schwermetallsalzen und Extraktion mit geeigneten Lösungsmitteln. *L. Agopian, Paris.*

— Zusatz-P. **26 034** und **27 271**, DRP. **417 020**, Engl. P. **193 331**, Norweg. P. **38 647**, Schwed. P. **68 773**, Schweiz. P. **105 864**: Verwendung von organischen Säuren statt Schwermetallsalzen. *L. Agopian, Paris.*

— **595 537**, Engl. P. **272 376**, Norweg. P. **44 274**, Schwed. P. **67 395**, **67 637**, Schweiz. P. **123 817**: Gewinnung von reinem Vitamin aus Pflanzensäften durch Fällung mit Bleisalzen in saurer und alkalischer Lösung. *L. Agopian, Paris.*

— **749 742**: Vitamin-C-haltige Pflanzen, z. B. Kresse, werden mit kondensierter Milch verarbeitet. *C. Groll & E. Stirnimann, Schweiz.*

— **780 055**, Ital. P. **333 691**, Österr. P. **148 602**, Poln. P. **21 971**, Schwed. P. **85 102**, Ung. P. **112 852**, Tsch. P. **56 034**: Ketohexonsäure aus Sorbose durch Oxydation der Bismethylenäther mit Permanganat und Verseifung der Äther. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **792 675**: Teig oder Mehl wird mit Zitronensaft oder Ascorbinsäure versetzt. *Aktieselskab Dansk Gaerings Ind.*

— **805 335**: und Zusatz-P. **47 155**: Herstellung von Schwermetallsalzlösungen, bes. Ferrosalzlösungen der Ascorbinsäure. *F. Arloing, A. Morel, Josserand.*

— **823 732**: Komplexsalze des Isovitamins C. *F. Arloing, A. Morel.*

— **831 054**: Biologische Bereitung von Vitamin-C-Präparaten. *Lars Flodquist, Schweden.*

Jugosl. P. **13 531**: Vitamin-C-haltige, schwach saure Zahnkreme ohne Seifengehalt. *Baeder Illatszergyar R. T., Ujpest.*

Russ. P. **48 318**: **Ascorbinsäurekonzentrat aus Hagebutten.** *A. A. Schmidt* und *K. S. Tutschinskaja, USSR.*

Schwed. P. **88 094**: Ascorbinsäure aus Bismethylenäther der Ketohexonsäureester durch Einwirken von Säuren. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

Schweiz. P. **174 080**, Amer. P. **2 039 929**, Belg. P. **407 231**, Dän. P. **50 862**, **50 863**, Engl. P. **435 971**, Franz. P. **45 774**, Holl. P. **38 004**, Österr. P. **149 992**, Poln. P. **22 626**, Schwed. P. **84 931**, Ung. P. **114 627**: Oxydation von l-Sorbose mit Permanganat unter Schutz der Hydroxylgruppen mittels cyclischer Ketone, z. B. Cyclohexanon. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **174 208**, Belg. P. **405 617**, Engl. P. **428 814**: Überführung der Keto-hexonsäure-ester in Ascorbinsäure durch Einwirkung alkalischer Mittel. *T. Reichstein, Zürich* und *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **175 347**: Ketohexonsäuremethylester. *T. Reichstein, Zürich.*

— **180 810**, Dän. P. **52 930**, Franz. P. **779 883**, Ital. P. **324 496**, **328 788**, Poln. P. **22 321**, Schwed. P. **86 230**, Ung. P. **114 352**, Tsch. P. **55 858**: Ascorbinsäure aus Ketohexonsäure und deren Estern in Gegenwart von Calciumcarbonat, Alkalien oder Säuren. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **181 919**, Amer. P. **2 035 153**, Belg. P. **409 832**, Dän. P. **51 482**, Engl. P. **439 935**, Holl. P. **40 315**, Österr. P. **146 915**: Stabilisieren von Lösungen von Neosalvarsan durch Ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **187 832**, Dän. P. **54 204**, **54 339**, Engl. P. **469 157**, Poln. P. **25 243**: Ascorbinsäure aus Ketohexonsäureester mit Alkalisalzen schwacher Säuren. *Hoffman-La Roche, Basel.*

— **187 933** und **187 934**, Belg. P. **405 617**, Dän. P. **53 997**, Engl. P. **428 815**: Ketohexonsäure wird durch Erhitzen bei saurer Reaktion in Gegenwart fester oder flüssiger Stoffe in Ascorbinsäure überführt. Ebenso Salze, Ester und Bismethyläther der Ketohexonsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **188 800**, **188 802** und **188 803**, Dän. P. **54 097**, Engl. P. **466 548**, Poln. P. **25 067**: Ketohexonsäure wird durch Kochen in saurem Milieu in Ascorbinsäure übergeführt. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

Schweiz. P. 188 804 und 189 564, sowie 190 054, Engl. P. 459 207: Ascorbinsäure aus Ketohexonsäure mit alkohol. Salzsäure. *T. Reichstein, Zürich.*
— 189 509: Ascorbinsäure als Oxydationsschutz für Ferrosalze. *Ges. f. chem. Industrie, Basel.*
— 189 868: Ascorbinsäure als Oxydationsschutz für Ferrosalze. *Promonta, Hamburg.*
— 193 772: Wasserlösliches Calciumdoppelsalz der Ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— 194 281: l-Ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— 197 716: 3-Keto-d-pentonsäure-lacton. Antiscorbut. Wirkung. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— 199 598: l-Ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— 200 572: 3-Keto-d-pentonsäure-lacton. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— 203 549: 6-Desoxy-l-ascorbinsäure. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
Ungar. P. 108 184: Wässerige Pflanzenextrakte werden mit Bleisalz und Barytfällungen gereinigt. *Chinoin Gyogyscer.*
— 112 370: Zusatz von Ascorbinsäure zu Teig und Teigwaren. *A. Fenyö, Budapest.*
— 115 639: Ascorbinsäure im Gemisch mit Glycerin und Talg zum Konservieren von Gummi *E. Tornya.*

## Vitamin $B_1$

DRP. 311 074: Extraktion von pflanzlichen oder tierischen Materialien mit verdünntem Alkohol und Fällen mit Bleisalzen. *Ciba, Basel.*
— 320 785: Aufschließung des Ausgangsmaterials durch vollständige Hydrolyse mit verd. Mineralsäuren bei 80°. *R. Boßhard* und *F. Hefti, Schweiz.*
— 359 878: Aufschließung des vitaminhaltigen Materials vor der Extraktion mit Fermenten. *Ciba, Basel.*
— 669 187: Vitamin $B_1$. *E. Merck, Darmstadt.*
— 672 078: Anreicherung von Zellvermehrung bewirkenden Wachstumsstoffen. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— 670 131: Thiazole. *E. Merck, Darmstadt.*
— 673 174: 4-Methyl-5-β-oxyäthylthiazol. *E. Merck, Darmstadt.*
— 675 617: Thiazolverbindungen. *E. Merck, Darmstadt.*
Amer. P. 1 869 721 und 1 889 427, Austr. P. 27 176/30, Belg. P. 376 472, Canad. P. 319 228, Engl. P. 354 421, Franz. P. 714 416, Holl. P. 30 781, 32 452, Schweiz. P. 173 539: Saurer alkohol. Extrakt aus Reishülsen wird in Eisessig gelöst und die Verunreinigungen mit Aceton niedergeschlagen. Adsorption an Kohle. *Barnett Sure, Fayetteville.*
— 1 987 671: Abtrennung von Ballaststoffen durch Benzoylierung. *A. Seidell, Washington.*
— 2 002 519: $B_1$-haltige Extrakte werden durch Behandlung mit Oxydationsmitteln von Ballaststoffen befreit. *S. J. Dannenberg, New York.*
— 2 015 876: Adsorption von sauren alkohol. Extrakten aus Reishülsen an Noritkohle. *Barnett Sure, Fayetteville.*
— 2 049 988: Ellution des Fullererdeadsorbates von Reishülsenextrakt mit kongosaurer Chininsulfatlösung. *Research Corp., New York.*
— 2 114 775: Franz. P. 818 702: Adsorption an Zeolith und Elution mit Salzlösungen. *L. R. Cerecedo, USA.*
— 2 127 446: Vitamin $B_1$. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— 2 134 015: 4-Methyl-5-β-oxyäthylthiazol. *Research Corp., New York.*
— 2 153 016: Pyrimidinverbindungen, die mit Vitamin $B_1$ in Zusammenhang stehen. *Research Corp., New York.*
— 2 160 867: Thiazole. *Merck & Co., Inc. Ralway, N. Y., USA.*
— 2 166 233: Antineuritisch wirksame Verbindungen. *Research Corp., New York.*
— 2 184 720: Vitamin $B_1$. *Kabushiki-Kaisha-Takeda-Chobei Shoten, Osaka.*
Austr. P. 105 121: Vitamin $B_1$. *May & Baker Ltd., London.*
— 105 262: Antineuritische Verbindungen. *May & Baker Ltd., London.*

Dän. P. **55 976**: Herstellung von Vitamin $B_1$. *E. Merck, Darmstadt.*
Engl. P. **507 918**: Vitamin $B_1$. *E. Merck, Darmstadt.*
Franz. P. **881 110**: Vitamin $B_1$. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
Indisch. P. **25 808**: Vitamin $B_1$ und analoge Verbindungen. *Kabushiki-Kaisha-Takeda-Chobei Shoten, Osaka.*
Schwed. P. **94 764** Herstellung von Aneurinphosphat. *H. v. Euler* und *R. Vestin, Stockholm.*
Schweiz. P. **197 717**: Reines, krystallisiertes Salz des Vitamins $B_1$. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— **203 259**: Vitamin $B_1$. *E. Merck, Darmstadt.*

## Vitamin $B_2$ und Lactoflavinphosphorsäure

DRP. **607 512** und Zusatz-P. **634 969**: Elution von Lactoflavin-Adsorbaten mit Pyridin-Methanol-Wassergemisch oder mit verd. alkohol. Ammoniak. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— **632 131**: Lipoidlösliches Lactoflavinderivat durch Einwirkung von Aceton auf Lactoflavin in Gegenwart von Salzsäure. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— **632 366**, Tsch. P. **58 357**: Darstellung des gelben Oxydationsfermentes aus wässerigem Hefeauszug. *Schering-Kahlbaum, Berlin.*
— **633 392**: Darstellung der Lactoflavinphosphorsäure aus dem gelben Oxydationsferment durch Spaltung mit Methanol. *Schering-Kahlbaum, Berlin.*
— **637 386**: Reinigung der Lactoflavinphosphorsäure über das Erdalkalisalz. *Schering-Kahlbaum, Berlin.*
— **637 503**, Canad. P. **356 806**, Engl. P. **451 779**, Franz. P. **785 490**: Darstellung des gelben Oxydationsfermentes. *Schering-Kahlbaum, Berlin.*
— **638 188**, Österr. P. **149 759**, Schweiz. P. **186 959**: Spaltung des gelben Oxydationsfermentes mit Natronlauge. *Schering-Kahlbaum, Berlin.*
— **638 822**, Österr. P. **152 095**, Schweiz. P. **186 958**: Spaltung des gelben Oxydationsfermentes mit Natronlauge in der Wärme. *Schering-Kahlbaum, Berlin.*
— **647 721**: Synthese der Lactoflavinphosphorsäure aus Lactoflavin und Phosoxychlorid in Pyridin. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— **677 515**: Flavine. *Hoffmann-La Roche, Basel.*
— **687 197**: Herstellung von Lactoflavinphosphorsäure. *Ges. f. chem. Industrie, Basel.*
Amer. P. **2 006 699**: Lactoflavin aus Milch. *Borden, New York.*
— **2 139 857**: Lactoflavin-Konzentrate. *S.M.A. Corp., Jersey City.*
— **2 175 014**: Vitamin-$B_2$-Konzentrate. *S. E. Booker* und *L. T. Work, New York.*
— **2 186 314** Isolierung von Lactoflavin aus anorgan. Adsorbaten. *Borden Co., New York.*
Engl. P. **434 058**: Vitamin-$B_2$-haltiges Konzentrat aus Molken. *W. W. Triggs, London.*
— **438 126**, Canad. P. **354 486**: Vitamin $B_2$ als Zusatz zu Präparaten gegen perniziöse Anämie. *Eli Lilly & Co.*
— **441 692**, Franz. P. **792 070**: Lactoflavin und andere Iso-alloxazinverbindungen durch Kondensation von N-monosubstituierten aromatischen o-Diaminen mit Alloxan. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
— **461 245**: Darstellung von N-Polyoxyalkyl-phenylen-diaminen. Kondensation von 4.5-Dimethyl-1-amino-2-nitrobenzol mit d-Ribose. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*
Schweiz. P. **185 181** und Zusatz-P. **187 987**, Belg. P. **410 197**, Dän. P. **53 323**, Engl. P. **457 984**, Poln. P. **23 126**, Schwed. P. **85 995**: Lactoflavin und andere Iso-alloxazinverbindungen durch Kondensation von o-Phenylendiaminderivaten, die eine hydroxylhaltige Seitenkette tragen. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

Schweiz. P. **187 938:** Kondensation von Alloxan mit 4-Methyl-2-amino-phenyl-ribamin. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

— **187 939** und **187 940,** Dän. P. **53 323:** Darstellung von Isomeren des Vitamins $B_2$. *Hoffmann-La Roche, Basel.*

## Vitamin $B_4$

DRP. **630 772:** Die Fluorescenz im U.-V.-Licht zur Bewertung der Extrakte. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **646 548:** Vorbehandlung der Adsorbate mit starkem Alkali und Elution mit Aminen, z. B. Pyridin. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

## Vitamin $B_6$ (Adermin)

DRP. **684 975:** Vitamin-$B_6$-Proteinzubereitungen. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

## Vitamin-B-Komplex

DRP. **266 211:** Reinigung von Alkoholextrakten aus Reisschalen. *J. Tsuzuki, Tokio.*

— **295 361:** Reinigung der aus Hefeextrakt gewonnenen Phosphorwolframsäurefällungen des Vitamins durch Extraktion mit Aceton. *C. F. Boehringer Söhne, Mannheim.*

— **392 442:** Plasmolysierte Hefe wird mit Calciumphosphat zu Futtermitteln verarbeitet. *Bayer & Co., Leverkusen.*

— **434 158,** Engl. P. **217 282:** Vitamine aus Kleie als Brotzusatz. *Kellogg Comp., Battle Creek.*

— **456 387,** Engl. P. **249 746,** Franz. P. **604 077:** Vitaminhaltiges Futtermittel aus gemälztem Getreide. *P. M. W. Grelck, St. Paul.*

— **489 186:** Vitamin B aus Spargel durch Extraktion mit Wasser bei $p_H = 5$. *O. Reinke, Braunschweig.*

— **499 384,** Österr. P. **107 566:** Aufschließung von Getreidekeimlingen durch Plasmolyse und Zellgärung. *Aktienfabrik Kolin, Böhmen.*

— **504 816:** Vitaminhaltiges Hefepräparat. *Diamalt A.G., München.*

— **516 820:** Vitaminreiche Nahrungsmittel aus gekeimten Körnerfrüchten. *R. Neugebauer, Dresden.*

— **521 126:** Reinigung von wässerigen Lösungen von Vitaminen durch Diffusion bzw. Dialyse durch halbdurchlässige Membranen. *Knoll, Ludwigshafen.*

— **528 250:** Vitaminextrakt aus gequetschter ungekeimter Gerste. *A. Keddi, Berlin.*

— **566 174,** Engl. P. **345 669,** Poln. P. **15 682:** Vitaminhaltiges, weinartiges Getränk aus vergorenem zuckerhaltigen Hefeextrakt. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **570 158,** Amer. P. **1 975 169,** Dän. P. **44 391,** Engl. P. **348 086,** Schwed. P. **72 690:** Hefe wird mit 10proz. Essigsäure aufbewahrt und dann das darin gelöste Vitamin B mit Calciumsaccharat niedergeschlagen. *Aktiebolaget Astra, Södertälje.*

— **575 546** und **577 622:** Vitaminhaltiges Bier aus plasmolysierter Hefe als Zusatz zur Würze. *H. v. d. Sandt, Dortmund.*

— **579 369** und **581 148,** Engl. P. **367 909:** Vitaminhaltiges Bier. *F. Lux* und *H. Krönig, Hösbach.*

— **609 744** und **625 075,** Engl. P. **365 256,** Franz. P. **698 375:** Vitaminisierung von Bier durch Zusatz von Hefe, Hefeextrakt usw. *H. v. d. Sandt, Dortmund.*

— **618 899** und **631 182,** sowie **636 484:** Vitaminisieren von Bier. *H. v. d. Sandt, Dortmund.*

Amer. P. **1 474 029** und **1 488 815:** Extraktion von Hefe mit kochendem verdünnten Essigwasser und Behandlung des Extraktes mit verschiedenen Lösungsmitteln. *J. F. Harris, New York.*

— **1 538 866:** Vitaminprodukt aus Hefe durch Behandlung mit Zucker und Erwärmen. *R. Willstätter* und *H. Sobotka, München.*

— **1 540 883:** Der Extrakt der wasserlöslichen Vitamine aus Hefe wird mit Milchzucker tablettiert.

— **1 541 263,** Egl. P. **186 633,** Canad. P. **237 940,** Franz. P. **557 387,** Schweiz. P. **106 202:** Vitaminzusatz zu Brotteig. *Ward Baking Comp., New York.*

— **1 765 574:** Vitamin B aus Aspergilluskulturen, die auf Getreidekörnern gezüchtet wurden. *Takamine Ferment Co., New York.*

— **1 990 961:** Elution des Fullererdeadsorbates mit verdünnten Mineralsäuren. *Eli Lilly & Co., Indianopolis.*

— **2 041 129:** Vitaminhaltiger Grundstoff für Nahrungsmittel, aus Weizenkeimen, Hefe, Malzextrakt, Getreideschalen usw. bereitet. *Ward Baking Co., New York.*

— **2 052 218** und **2 052 219:** Vitamin-B-Konzentrat aus Molke oder aus Spargel durch Extraktion mit Alkohol. *Ch. Dickens, Oakland.*

Belg. P. **417 981:** Getreidekeimlinge werden bei 10—12° im Luftstrom getrocknet *v. Meebeck* und *v. Breedam.*

Engl. P. **366 516,** Ung. P. **104 943:** Alkohol. Extrakte aus Getreideabfällen. *L. Bernadini, Rom.*

— **390 378:** Elution der Fullererde-Adsorbate mit alkalischen Lösungen. *S. J. Dannenberg, New York.*

— **428 044,** Canad. P. **350 634:** Plasmolyse von Hefe mit organischen Lösungsmitteln. *Standard Brands Inc., New York.*

— **449 526:** Vitamin-B-haltige Zwiebacke. *H. Ch. Graies & Vitam. Ltd., London.*

— **477 528:** Vitamin B und C enthaltende Präparate. *Standard Brands Inc., New York.*

— **486 054:** Flüssige Vitaminpräparate, die die B-Gruppe in haltbarer, mit Wasser klar mischbarer Form enthalten. *Eli Lilly & Co., Indianopolis.*

— **497 582:** Gewinnung von vitaminreichem Mehl aus Getreide und Samen. *Munke Moelle A.S., Odense.*

Franz. P. **558 023:** Hefe wird unter Druck plasmolysiert und der Extrakt konzentriert. *Ward Baking Comp., New York.*

— **694 443:** Gekeimte Getreidekörner werden mit einer Zucker- oder Schokoladenschicht überzogen. *S. M. Raybaud, Frankreich.*

Österr. P. **103 235:** Vitaminhaltiges Hefepräparat. *Diamalt A.G., München.*

— **137 427:** Dialyse unverletzter Pflanzenzellen in schwach saurer Lösung. *M. Klein, Wien.*

## Vitamin F

Belg. P. **434 564:** Beständige und hochaktive Vitamin-F-Zubereitungen. *Oelwerke Nourg & van der Lande g. m. b. H., Emmerich.*

## Vitamin H

DRP. **645 414,** Engl. P. **459 524:** Elektrodialyse von Vitamin-H-haltigen Leberextrakten. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

— **651 435,** Engl. P. **463 698,** Jug. P. **12 465,** Norweg. P. **57 108,** Schwed. P. **91 043,** Schweiz. P. **188 733,** Ung. P. **115 688:** Extrakte aus Leber und Niere nach vorheriger Säurehydrolyse der Organe durch Erhitzen auf 120° im Autoklaven. *I.G. Farbenindustrie, Frankfurt.*

## Vitaminpatente verschiedener Art

DRP. **362 367:** Vitamindauerpräparate aus vitaminhaltigen Preßsäften. *T. Hamburger, Berlin.*

— **448 870, 496 597** und **618 482:** Margarinezusatz aus Mischungen von Lebertran und Hefeextrakt. *Chem. Fabrik Sander & Co. A.G., Wesermünde.*

DRP. **470 085:** Vitaminhaltige Yogurtpräparate. *M. Winkel, Berlin.*
— **482 494:** Vitaminhaltige Margarine. *v. d. Bergh's Margarine G. m. b. H., Cleve.*
— **483 394:** Präparate aus Pflanzensäfte. *H. Aman, München.*
— **511 993:** Vitaminhaltige Käse. *H.* und *J. Jena, Windsbach.*
— **537 057,** Amer. P. **1 918 515,** Belg. P. **360 782,** Dän. P. **42 952,** Engl. P. **317 554,** Franz. P. **655 181,** Ital. P. **305 662:** Vitaminisierte Milch durch Zusatz wässeriger Extrakte aus entölten Baumwollsamen. *C. Schmitt, Heidelberg.*
— **565 901:** Präparate aus Pflanzensäften. *A. Hölscher, Heidelberg.*
Amer. P. **1 474 746:** Herstellung von gesäuertem Brot unter Zusatz von Vitamin A und B. *G. Summerville Ward, New York.*
— **1 502 563:** Vermeidung der Vitaminzerstörung beim Brotbacken durch Kneten des Teiges in einer $CO_2$-Atmosphäre. *W. P. Heath, Chicago.*
— **1 753 531,** Canad. P. **320 017:** Vitaminpräparat aus Milch, Hefe, Orangenextrakt und Fruchtsäften. *Vitamin Food Co. Inc., New York.*
— **1 896 185:** Teilweise Hydrierung von Lebertran. *E. Foster, New Jersey.*
— **1 918 938,** Canad. P. **334 561** und **334 562:** Vitaminhaltige, frische Gemüse werden im indiff. Gasstrom bei 35—40° getrocknet, gemahlen und tablettiert. *Vi-Foods Co., Boston.*
— **1 965 355:** Vitaminisierte Milch. *Ch. L. Patterson, New York.*
— **2 136 458:** Vitaminpräparat. *Parke, Davis & Co., Detroit.*
— **2 136 481:** Vitaminhaltige Öle. *Abbott Labor., North Chicago.*
— **2 157 755:** Herstellung von Vitaminfutter. *Pittsburg Flour Mills Co., USA.*
Belg. P. **412 200:** Milch als Emulgator für Vitaminpräparate. *Soc. Etudes et d'Applicat. Industr.*
Dän. P. **44 085,** DRP. **519 778,** Belg. P. **369 430,** Canad. P. **314 796,** Engl. P. **346 574,** Franz. P. **696 910,** Poln. P. **14 816,** Ung. P. **102 283:** Frische Pflanzen, z. B. Luzerne, werden mit Säuren, z. B. 10proz. $H_3PO_4$, plasmolysiert und bei 80° getrocknet. *Brinch & Spehr, Dänemark.*
— **55 747:** Herstellung von Gemischen von Nahrungsmitteln mit vitaminhalhaltigen Ölen. *J. Schmidt, Brinch, Esbjerg.*
Engl. P. **195 343:** Vitaminisierte Milch. *P. M. Travis & Ch. Glabau, New York.*
— **271 626:** Getrocknete Gemüse und Früchte werden gemahlen und tablettiert. *H. Haddan, San Franzisko.*
— **289 187:** Zerkleinerte Säugetierleber wird mit Öl extrahiert und bei 55—60° abgepreßt. *British Drug Houses Ltd., London.*
— **309 601,** Franz. P. **672 318,** Österr. P. **121 137,** Schweiz. P. **141 862:** Vitaminhaltige Schokolade durch Bestrahlen. *E. Oppenheim, Brünn.*
— **340 580** und **360 282,** Franz. P. **681 093:** Vitaminhaltige Schokolade. *van Houten & Zoon, Holland.*
— **408 650:** Vitaminhaltige Seife durch Bestrahlung. *J. Waerham, London.*
— **493 925:** Mischungen von Mineralstoffen und Vitaminen. *U. S. Vitamin Corpor., New York.*
Franz. P. **600 688:** Vitaminhaltige Margarine. *O. Mustad & Sohn, Norwegen.*
— **613 560:** Vitaminhaltige Speisefette. *A. W. Owe, Oslo.*
— **627 927** und **671 719,** Schwed. P. **67 206:** Bestrahlung von Kakaobutter. *Aktiebolaget Cloetta, Schweden,* und *J. Siepi.*
— **700 086:** Bestrahlung von Kakaobutter. *H. Habbé, Frankreich.*
— **730 547:** Vitaminhaltige Extrakte. *H. Akkermann, Holland.*
— **733 825:** Vitaminisierte Milch. *E. Hardé, Frankreich.*
— **771 059,** Norweg. P. **52 548:** Eindicken von Beerensaft mit Zucker bei niedrigen Temperaturen zur Erhaltung der Vitamine. *M. Chr. Gulbranson.*
— **798 549:** Vitaminpräparat aus Bananenbrei und Kastanienbrei. *A. Verley, Frankreich.*
Ital. P. **320 071:** Tomatenmark. *V. Bassi, Piacenza.*
Jugosl. P. **12 195:** Kosmetische Präparate mit Vitaminzusatz. *Baeder Berfumery Co. Ltd., Ujpest.*
Österr. P. **99 683:** Vitaminisieren von Kindermehl. *R. Fanto* und *M. Daniek, Wien.*

Österr. P. 137 784 und 142 018, Belg. P. 387 511, Ung. P. 106 976: Preßsäfte von Pflanzen und tierischen Organen werden vermischt und durch geeignete Stoffe aufgesaugt. *O. Zajicek, Wien.*

Poln. P. 9465: Vitaminhaltiges Mehl. *B. Zimmermann* und *L. König, Danzig.*

— 18 551: Vitaminpulver aus getrockneten Pflanzen. *J. Triska, Trebovice.*

— 23 978: Vitamine tierischer und pflanzlicher Herkunft werden mit roten Blutkörperchen zusammen getrocknet. *L. Spieß, Warschau.*

Russ. P. 54 143: Vitamintabletten. *E. N. Podkletnow, USSR.*

Schwed. P. 65 354: Vitaminhaltige Futtermittel. *A. Cewers, Göteborg.*

Ungar. P. 109 057: Vitaminisierte Yogurtmilch. *A. Pless, Budapest.*

— 111 268: Hefe-Vitamin-Präparat. *L. Györgyey, Tapiogyörgye.*

— 114 087: Bestrahlung von Obstkonserven. *P. Zelenko, Budapest.*

— 115 753: Vitaminisierte Milch durch Zusatz entsprechend bearbeiteter Paprikaschoten, Tomaten, Zitronen, Apfelsinen. *Milchindustrie A.G., Prag.*

# Sachverzeichnis


Acetobromarabinose 200
α-2-Acetoxyäthyl-acetessigester 176
3-Acetyl-7-oxocholesterin 24
Adenylsäure 205
Adermin (Vitamin $B_6$), siehe auch dort, 211
— Abbau 213
— Acetat 214
— Bestimmung 217
— Bromhydrat 214
— Chlorhydrat 213, 214
— Darstellung 216
— Konstitution 213
— Methyläther 214
— — chlorhydrat 216
— — jodmethylat 217
— Nachweis 216
— Physiologische Wirkung 215
Adermin-Protein 213, 215
Adermin-silico-wolframat 214
Adermin, Synthese 216
Adermin-violett 218
α-Aethoxymethylen-α-cyanessigsäure-äthylester 174
2-Aethyl-1.4-naphthochinon 125
Agnosterin 10
β-Alanin 225
Aldehyd $C_{21}H_{34}O$ 31
Alfalfa-Heu 98, 118
l-Allo-ascorbinsäure 141
Allocholansäure 15
o-Allyl-phenol 109
p-Amino-o-allyl-phenol 109
4-Amino-5-cyan-2-methylpyrimidin 174, 175
4-Amino-2-methylpyrimidin-5-carbonsäureäthylester 175
Aminopyrimidin-sulfonsäure 159
d-Aminosäureoxydase 205
4-Amino-5-thioformamidomethyl-2-methylpyrimidin 175
Aminourethan 203
Anämiefaktor der Tauben 230
Androsteron 19
Aneurin (Vitamin $B_1$), siehe dort, 156 ff.
Aneurinsynthese 169
— Methodik 172
Antianämie-Faktoren 230
Antigraue-Haare-Faktor 236
Antihämorrhagisches Vitamin (Vitamin K), siehe auch dort, 118
Antiinfektionsvitamin 65
Antioxydantien 54
Antipellagra-Vitamin (siehe auch Nicotinsäureamid) 219
— Biologische Wirkung 220
— Darstellung 220
— Eigenschaften 220
— Konstitution 219
— Nachweis 220
— Vorkommen 219
Antipneumonie-Vitamin J 235
Antitetanische Substanz 37
β-Apo-2-carotinal 76
— -oxim 76
β-Apo-4-carotinal-oxim 76
d-Arabinal 200
d-Arabo-ascorbinsäure 140
l-Arabo-ascorbinsäure 141
Ascorbigen 137
l-Ascorbinsäure (siehe auch Vitamin C) 128 ff.
Ascorbinsäure, fettlösliche Verbindungen 156
Ascosterin 11
Asteriasterin 11
„A.T. 10" 37
Atmungscoferment 223
Autolyse der Hefe 22
Avitaminosen 2
Azafrin 69
Azafrinal 69
Azobenzol 72

Baumwollsaatöl 9
Benzal-l-xylose 142
Benzoltetracarbonsäure 17
Beriberi 157
Bestrahlungsdauer 60
Bestrahlung verschiedener Stoffe 62
Bezssonoff-Reagenz 144
Bierhefe 19
Blutfaktoren 230
Bombicesterin 11
Brassicasterin 11
Brennesselblätter zur Carotin-Gewinnung 82

Calciferol 9 (siehe auch Vitamin $D_2$)
3-Carbäthoxy-5.7.8-trimethyl-6-oxycumarin 109
Carbonsäure $C_6H_8O_2NS$ 159

Carbo-pyridin-cyanin-Reihe 217
Carboxylase 167
Carotin 63, 65
— Abbau 67, 68
— Farbreaktionen 72
— Gewinnung 80 ff.
— Isomere 68
— Jodverbindungen 76, 77
— Kolorimetrische Bestimmung 72
— Konstitution 67
— Oxydationsprodukte 76, 77
— Vorkommen 67
α-Carotin 68, 69
— Darstellung 83
α, β-Carotin-dijodid 76
β-Carotin 69, 71
— Darstellung 83
γ-Carotin 69, 71
— Darstellung 83
Carotinoide 64, 65
— Einteilung 66
— Historisches 65
— Konstitution 66
— Vorkommen 66
β-Carotinon 79
β-Carotinoxyd 76
Chinone 109
Chinoxalinderivat 134
α-Chlor-2-acetoxyäthyl-acetessigester 176
4-Chlor-5-cyan-2-methylpyrimidin 174
Chloro-flavin 196
Cholansäure 19
Cholestan 15
Cholesterin 8
Cholsäure 19
Chromane 109
Citrin 236
Cocarboxylase 167
Codehydrasen 205, 219, 222 ff.
Cozymase 222
Cumarane 109
Cumarine 109
Cumarone 109
Cyan-pyrimidin 170
Cytochrom c 205
Cytoflav 183

Dehydro-ascorbinsäure 133, 136
— osazone 133
7-Dehydro-cholesterin 9, 23
— Eigenschaften 23
— Konstitution 24
— Nachweis 23
— Teilsynthese aus Cholesterin 25
— Vorkommen 23
7-Dehydro-cholesteryl-acetat 24
— -benzoat 24
— -m-dinitrobenzoesäureester 24
β-Dehydro-semicarotinon 76
7-Dehydro-sitosterin 10, 27
— -acetat 27
— -benzoat 27
— Konstitution 28
7-Dehydro-stigmasterin 28
— -acetat 28
— -benzoat 28
Dermatitis 212
2-Desoxy-2-amino-l-ascorbinsäure 141
6-Desoxy-l-ascorbinsäure 140
Deutero-lactoflavin 197
Diaceton-l-gulosonsäure 142
— -2-keto-l-gulonsäure, Darstellung 152
Diacetonlactoflavin 196
Diaceton-l-sorbose 142
— Darstellung 151
1.4-Diacetoxy-2-methylnaphthalin-3-essigsäure 120
Diacetyl 101
Diacetyl-arabinal 200
— -dihydrovitamin K 120
— — $K_1$ 122
2.2-Diäthyl-chroman 109
1.2.3.4-Diäthyliden-d-sorbit, Darstellung 154
p-Diamino-ψ-cumol-chlorhydrat 115
Diaphorase 205
Dicarbonsäure $C_{28}H_{48}O_4$ 18
2.6-Dichlorphenol-indophenol 129, 144
2.3-Difarnesyl-1.4-naphthochinon 123
Digitonide 11
Digitonin 11
o, o-Dihexenyl-phenol 109
α-Dihydro-carotin 76
β- — 76
Dihydro-cholesterin 10
Dihydro-codehydrasen 205, 223
Dihydroergosterin 11, 12, 14
22-Dihydro-ergosterin 10, 26
— -acetat 26
— Darstellung 27
— Konstitution 26
Dihydro-lumisterin 35
Dihydrositosterin 11
o-Dihydro-pyridin 223
Dihydro-tachysterin 36, 37
Dihydroverbindungen der Sterine 11
Dihydro-vitamin $D_2$ I 40
— — II 40
5.7-Dimethyl-8-äthyltocol 109
6.7-Dimethyl-alloxazin 186
1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylaminobenzol 186
2.5-Dimethyl-4-aminopyrimidin 159
1.2-Dimethyl-4-amino-5-d-l'-ribitylaminobenzol 188, 201
2.5-Dimethyl-benzochinon 125

α, α-Dimethyl-bernsteinsäure 67
Dimethyl-carbäthoxy-aminophenyl-ribamin 203
α, α-Dimethyl-glutarsäure 67
2.3-Dimethyl-hydrochinon 109
Dimethyl-hydrochinon-äther 107
p-Dimethyl-hydrochinon 104
Dimethylmaleinsäure 101
Dimethylmalonsäure 67
2.3-Dimethyl-naphthalin 32
2.3-Dimethyl-1.4-naphthochinon 125
1.2-Dimethyl-4-nitrobenzol 201
1.2-Dimethyl-4-nitrophenyl-5-isocyanat 202
1.2-Dimethyl-4-nitrophenyl-ribamin 201
— -urethan 203
Dimethyl-phenyl-ribamin 203
6.7-Dimethyl-9-(d-l'-ribityl)-isoalloxazin 186
— -d-riboflavin 186
— — -5'-phosphorsäure 207
— — -5'-phosphorsäure, Synthese 207
Dimethyl-tetrahydro-naphthohydrochinon-mono-n-dodecyläther 110
Dimethyl-l-threonsäure 131
2.2-Di-n-butylchroman 109
4.5-Dinitro-1.2-dimethylbenzol 201
1.4-Dioxy-2.3-dimethyl-5.6.7.8-tetrahydronaphthalin 109
Dioxy-valeriansäure 225
Diphenylpolyene 67
Diphospho-pyridin-nucletoid 223
— -thiochrom 168
Dorsch 45
Durochinon 109
Durohydrochinon 101, 109
Durohydrochinon-di-n-butyläther 109
— — —-heptyläther 109
— — —-hexyläther 109
— — —-octyläther 109
— -mono-benzyläther 110
— — -n-butyläther 109
— — —-decyläther 109
— — -dihydrochaulmoograsäureester 110
— — -dihydro-phytyläther 110
— -n-dodecyl-ätherpalmitat 110
— -essigsäureester 109
— -mono-n-hexyläther 109
— — —-nonadecyläther 110
— — —-octadecyläther 110
— — —-octyläther 109

Emulsionen von Vitamin D 56
Enteneier 9
Enterales Vitamin 230
Enzyme 239
Epidihydro-lumisterin 35
Ergostan 15
Ergostanol 17
Ergosterin 9, 10, 12
Ergosterin Absorptionsbanden 13
— Darstellung 20 ff.
— Eigenschaften 13
— Farbreaktionen 12
— Konstitution 15
— Nachweis 12
— peroxyd 14
— Roh-, Reinigung 23
— Vorkommen 10, 11, 12
Ergosterylacetat 14
— allophanat 14
— benzoat 14
— palmitat 14
Ergozyme 239
Eriodictin 237
l-Erythro-ascorbinsäure 141
Esterasen 139

Fäkosterin 11
Faktor W 235
Farbreaktionen 12
Farbwachse 66
Fermentoxydation 138
Fettlösliche Vitamine 7
Fettsäuren, ungesättigte 226
Filtratfaktor W 235
Flavanon-Glykoside 237
Flavin-dinucleotid-enzyme 205
Flavine 183
Flavinenzym 204 ff.
Follikelhormon 19
l-Fuco-ascorbinsäure 140
Fumarsäure 205
Fungisterin 11

d-Galacto-ascorbinsäure 141
l- — — 140
Gallensäuren 15
Gelbes Ferment 183, 204 ff.
— — Bestimmung 209
— — Darstellung 209
— — Eigenschaften 208
— — Synthese 207, 210
Geronsäure 68
d-Glucose 142
— Reduktion 150
d-Gluco-ascorbinsäure 141
l- — — 140
d-Glucohepto-ascorbinsäure 140
Glyoxalase 205
Glyoxylsäure-ester 143

l-Gulo-ascorbinsäure 141
l-Gulonsäure-γ-lacton 143
l-Gulosazon 143
l-Gulose 143
l-Guloson 143
l-Gulonsäure 142, 143
— -methylester 142

Hämogen 230, 231
Hämogenase 231
Hämon 231
Hautfaktoren 211
Hautnekrosen 226
Hautsalben 226
Hautvitamin 226
Hefefett 12, 20
Heilbutt 45
Hepaflavin 183
Hesperidin 237
Hexuronsäure 129
Hormozyme 239
Hühner-Antidermatitis-Vitamin (Pantothensäure) 224
Hühner-Dermatitis 224
— -Pellagra 224
— -Rachitis 7
Hydrochinon-äther 109
Hydrochinone 109
Hvpervitaminosen D 41
Hypovitaminosen 240

l-Idonsäure 131
Imido-d-glucohepto-ascorbinsäure 141
Internationale Einheit (I.E.) 2
Ionon 67
β-Ionyliden-acetaldehyd 89
— -essigsäureäthylester 89
— -essigsäure-o-toluidid 89
— -methylhexadienal 90
Iso-duridin 115
Isolumisterin 35
Isopren 67
Iso-pseudo-cumenol 101
Isopyrocalciferol 39

Karotten zur Vitamin-A-Gewinnung 81
2-Keto-l-gulonsäure 152
— -methylester 153
Ketolactone 128
Keton $C_{18}H_{32}O$ 47
— $C_{18}H_{36}O$ 101
— $C_{19}H_{32}O$ 31
— cyclisches, $C_{19}H_{34}O$ 31
Ketosäure $C_{13}H_{20}O_3$ 31
Klionosterin 11
Koprosterin 11
Kryptogamen 11
Kryptoxanthin 72
Kuratives Verfahren 2

Lactam $C_{11}H_{12}ON_2$ 186
Lactationsvitamine 236
Lacto-ascorbinsäure 141
Lactochrom 183
Lactoflavin (Vitamin $B_2$, siehe auch dort) 183 ff.
Lactoflavin-tetracetat 196
Lacton $C_{21}H_{40}O_2$ 101
Lanosterin 10
Lebertran 45, 52
— Antioxydantien 53
— Gehalt an D und A 53
— Gewinnung 53
— Präparate 56, 57
Leukoflavin-enzym 206
Lichtfilter 58
Lichtquellen 57
Linolensäure 226
9.12-Linolsäure 226
α-Linolsäure 226
— Tetrabromid 226
Lipochromfarbstoffe 183
Lumichrom 186, 197
Lumiflavin 186, 197
Lumilactoflavin 186
Lumisterin 30, 34, 35
— -acetat 35
— -allophanat 35
— -m-dinitrobenzoesäure-Verbindung 35
— Reduktion 35
Lyochrome 183

Magnesiumlampen 57
Malto-ascorbinsäure 141
Megalocytose 230
Metacholesterin 11
Methoxymethyl-pyridin-dicarbonsäure 213
3-Methoxypyridin-dicarbonsäure-(4.5)-anhydrid 213
2-Methyl-4-amino-5-amino-methylpyrimidin 160
— — -5-halogen-methylpyrimidin 169
— — -5-sulfomethylpyrimidin 159
— — -5-thioformamido-methylpyrimidin 172
— -5-äthoxymethyl-6-aminopyrimidin 173
— — -6-chlorpyrimidin 173
— — -6-oxypyrimidin 173
— -5-brommethyl-6-aminopyrimidin-hydrobromid 173
Methyl-α-chlor-γ-acetoxy-propylketon 171, 176
— — -γ-oxypropylketon 172

β-Methylcrotonaldehyd 89
2-Methyl-cumaran 109
γ-Methyl-cyclopenteno-phenantren 16, 31
Methylenblau 129
Methylheptanon 17
Methyl-isopropyl-acetaldehyd 17
2-Methyl-3-methoxy-4.5-bis-(amino-methyl)-pyridin 216
2-Methyl-3-methoxy-4.5-bis-oxymethyl-pyridinium-jodmethylat 218
2-Methyl-3-methoxy-4.5-dicyanpyridin 216
3-Methyl-4-methoxy-isochinolin 216
2-Methyl-3-methoxy-pyridin-4.5-dicarbonsäure 216
— -1.4-naphthochinon 124, 126
— — -3-essigsäure 120
— -1.4-naphthohydrochinon 127
4-Methyl-5-oxäthylthiazol 160, 169, 171, 174
2-Methyl-3-oxy-1.4-naphthochinon 119
— -3-phytyl-1.4-naphthochinon 121
N-Methylpyridin-β-carbonsäure 221
Mischcarotin 71
Mohrrüben 67
— zur Carotingewinnung 82
Monobenzal-sorbit 142
Mutterkorn 9, 11
Mykosterine 11, 12
Myxoxanthin 73

Naphthalin 32
α-Naphthochinon 125
Naphthochinonderivate 118
2-Naphthoesäure 32
Neoergosterin 17
Neosterin 11
Nicotinsäure 219
— -amid 219
Nitrourethan 202
Nitroxylidin 202
Norallocholansäure 15

Oestron 19
Ovoflavin 183
Oxocarbonsäure $C_{12}H_{12}O_3N_2$ 186
β-Oxycarotin 76
Oxycholesterin 10
Oxydationsprodukt von α-Tocopherol 109
α-Oxy-β, β-dimethyl-γ-butyrolacton 225
3-Oxy-4.5-di-(oxymethyl)-2-methylpyridin 213
4-Oxy-2-methylpyrimidin-5-carbonsäure-äthylester 175
2-Oxy-naphthochinon 125
Oxytetronsäure 140

Palmöl zur Carotingewinnung 83
Panmyelophthise 230
Pantothensäure 224, 225, 236
— Konstitution 225
— Synthese 225
2.3.4.6.7-Pentamethyl-5-oxycumaran 109
Perhydro-carotin 71
Perhydrovitamin A 87
— $D_2$ 40
Permeabilitätsvitamin 236
Perniciosa 230
Peroxydase 138
Pellagra 211, 219
Phanerogamen 11
Phenoläther 109
Phenole der Chromanreihe 98 ff.
Phenoloxydasen 138
Phenyläthyl-indan 38
o-Phenylendiamin 134
Phloron 125
Photosensibilisatoren 58
Phthalsäure 120
Phthiocol 119
α-Phyllochinon 125
Physalis 72
Phytol 103, 115
— Darstellung aus Brennesselmehl 115
— Synthese 115
Phytosterine 11
Phytylbromid 103, 115
α-Picoline 217
Polyenabkömmlinge 62
Polyenfarbstoffe 65
Prophylaktisches Verfahren 2
Prothrombinmangel 119
Provitamin 6, 9
Provitamine A 64, 65, 75, 76
— Darstellung 80
— synthetische 76
Provitamin D 10, 27
— $D_2$ 10
— — Eigenschaften 23
— — Nachweis 23
— $D_3$ 23
— $D_4$ 26
Pseudo-cumohydrochinon 104, 109
— — -mono-benzoat 109
— — -mono-dihydro-chaulmoograsäureester 110
— — -mono-n-dodecyläther 109
— — -mono-n-heyläther 110
Pyrazolone 133
Pyiridin-β-carbonsäure-amid 219
Pyridiniumverbindungen, quartäre 217
Pyrimidinabkömmling $C_7H_{11}O_2N_3$, aus Aneurin 159
Pyrimidinring, Aufbau 172, 174

Pyrocalciferol 39
Pyrophosphorsäureester des Vit. $B_1$ 167

Quecksilberdampflampen 57
Quercitrin 237

Rachitis 7
Rachitogene Spasmophilie 7
Reductinsäure 140
Reducton 140
Reflektoren 58
Reformatzky-Synthese 87
Reifungsfaktor 230
l-Rhamno-ascorbinsäure 140
d-Ribamin 201
d-Ribose 186, 191, 201
Ringsystem des Ergosterins 16
Rohcarotin, Darstellung 80

Satina-Creme 226
Säure $C_{18}H_{32}O_2$ 101
— $C_{23}H_{38}O_2$ 15
Schardinger Enzym 138
Schweineschwarte 9
Schwermetallkatalyse 136, 138
α-Semicarotinon 76
β- — 76
— — -monoxim 76
Serumkalkspiegel 36
Sesamöl 226
Sexualhormone 18
Sichelzellenanämie 230
Sionon 151
Sitosterin 11
Skapoliawurzel 9
Skorbut 128
Sorbit 142
— Oxydation mit Bact. xyl. 151
l-Sorbose 142
— Gewinnung 150
Spongosterin 10
Sprue 231
Stellasterin 11
Sterinabkömmlinge 7
Sterine, Beziehungen zum Vitamin D 8
— , Einteilung 10
Stigmasterin 11
Suprasterine 9
Suprasterin I 37
— -acetat 38
— -allophanat 38
Suprasterin II 38
— -allophanat 38

Tachysterin 35, 36
— Essigsäureester 36
— -3.5-Dinitro-4-methyl-1-benzoesäureester 36
Technik der U.-V.-Bestrahlung 57
Testikelhormon 19
Tetanie 7
2.4.6.7-Tetramethyl-5-oxy-cumaron 109
Thiamin (siehe auch Vitamin $B_1$) 157
Thiazol 159
N-Thiazoliumhydroxyd 161
Thiazoliumsalz, quartäres 161
Thiazolring, Aufbau 173
Thiochrom 162
1-Threo-3-keto-hexonsäurelacton 131
1-Threonsäure 131
1-Threose 143
Thunfisch (Thunnus thynnus) 46
α-Tocopherol 101, 106
— Abbau 101
— Derivate 106
— Eigenschaften 106
d, l-α-Tocopherol, Derivate 106
— Eigenschaften 106
— Synthese 115
β-Tocopherol 101, 103
— Abbau 104
— Derivate 106
— Eigenschaften 106
— Synthese 104, 115
γ-Tocopherol 108
α-Tocopherol-Chinon 109, 125
Tocopherole, Allgemeines 98 ff.
— Bestimmung 110 ff.
— Darstellung 113
— Nachweis 110
— Synthese 115
Toxisterin 37
Trigonellin 221
2.3.7-Trimethyl-cumaran 109
Trimethyl-hydrochinon 103
— Darstellung 115
2.6.10-Trimethyl-pentadecanon-14 120
Triphospho-pyridin-nucleotid 223
Tropenanämieverhütender Faktor 230
Tyrosin 232, 233

Ultraviolett-Bestrahlung 57
Ungesättigte Alkohole 7
Uroflavin 183
Uropterin 230, 232

Vitamine A 62
Vitamin A 45, 84
— -anthrachinon-β-carbonsäureester 92
— -benzoesäureester 92
— Carr-Price-Reaktion 93
— Chemische und physikalische Eigenschaften 91
— -citraconsäureester 92
— Darstellung 95
— Ester 92
— Gaben 79
— Konstitution 86
— -maleinsäureester 92

Vitamin A, Nachweis 93
— -β-naphthoesäureester 92
— Oxydation 92
— Physiologische Wirksamkeit 93
— Synthese 88, 95, 97
— Vorkommen 84
— Wirkung 77
Vitamin $A_2$ 95
Vitamin $B_1$ 156 ff.
— Abbau 159
— Absorptionsspektrum 163
— Bestimmung 165
— Bromhydrat 163
— Chemische und phsikalische Eigenschaften 163
— Chloraurat 163
— Chlorhydrat 163
— Darstellung 176 ff.
— Entdeckung 157
— Farbreaktionen 164
— Hypovitaminose 167
— Konstitution 158
— Konzentrate 177
— Nitrat 163
— Physiologische Wirkung 165
— Pikrolonat 163
— -pyrophosphorsäure (Cocarboxylase) 167
— Rufianat 163
— Sulfat 163
— Synthese 169
— — Methodik 172 ff
— Testmethoden 166
— Tetrasulfat 163
— Vorkommen 157
Vitamin $B_2$ 183 ff.
— Chemische und physikalische Eigenschaften 193
— Darstellung 198
— Einheiten 191
— Isomere 192
— Konstitution 184
— Nachweis 198
— Synthese 188, 200 ff.
— Vorkommen 184
— Wirkung und Konstitution 191
Vitamin $B_3$ 227 ff.
— $B_4$ 229 ff.
— $B_5$ 227 ff.
Vitamin $B_6$ 211
— Abbau 213
— Eigenschaften 213
— Konstitution 213
— Vorkommen 212
Vitamin $B_7$ 230
— $B_w$ 235
— $B_x$ 236
Vitamin-B-Komplex, Darstellung 181
Vitamin C 128 ff.
— Acetonverbindung 131
— Aktivierung von Fermenten 139
— Bestimmung 144
— Biologische Eigenschaften 137
— Chemische Bestimmung 129
— Chemische Eigenschaften 135
— Darstellung von kryst. 147
— — aus Hagebutten 148
— — — Paprika 147
— — — Schwertlilie 149
— — — Zitronen 149
— Dehydrierung 133
— Fermentartige Wirkungen 138
— Gewinnung 146
— Isomere 140
— Konstitution 129
— — und Wirksamkeit 139
— Konzentrate 146
— Nachweis 144
— -Oxydase 145
— Oxydation 137
— Ozonspaltung 131
— Physikalische Eigenschaften 134
— Reduktionskraft 136
— Synthese 141, 150
— — nach der l-Gulonsäure-Methode 142
— — nach der Oson-Blausäure-Methode 141
— Tautomerie 133
— Vorkommen 129
Vitamin $C_2$ 235
Vitamine D Allgemeines 7, 29
— Geschichte 8
Vitamin D künstliches 10
— natürliches 9
— -Präparate 52
— — wasserlösliche 61
— Technische Darstellung 52
— Ursprung 51
— -Vorstufen 10
Vitamin $D_1$ 9, 30
Vitamin $D_2$ 9, 29, 38
— Addukte 39
— Allophanat 40
— Anissäureester 40
— Bedarf des Kindes 42
— Chemische und physikalische Eigenschaften 39
— Darstellung für wissenschaftliche Zwecke 42
— -3.5-dinitro-benzoesäureester 40

Vitamin $D_2$-3.5-dinitro-4-methylbenzoesäureester 40
— Entstehung 33
— Farbreaktionen 40
— Internationale Einheit 42
— Konstitution 30
— -β-Naphthoesäureester 40
— Phenylurethan 40
— Physiologische Wertbestimmung 42
— Standard 41
— Vorkommen 29
— Wirkung 41
— Zusammensetzung 30
Vitamin $D_3$ 44, 45
— Allophanat 48
— Darstellung 48
— -3.5-dinitro-benzoesäureester 48
— Eigenschaften 47
— Konstitution 9, 46
— Löslichkeit 48
— Synthese 49
— Vorkommen 45
Vitamin $D_4$ 10, 49
— $D_5$ 49, 50
— $D_6$ 50
Vitamin E (siehe auch Tocopherol) 98 ff.
— Abbau 100
— Allophanate 100
— Biologie 106
— Eigenschaften 104
— Gewinnung 113
— Konstitution 100, 101
— — und biologische Wirkung 107
— Naphthoat 101
— Oxydation 105
— Präparate 113
— Synthese 103, 115
— Vorkommen 99
Vitamin F 226
— H 233
— J 235
Vitamin K 118
— Einheiten 119
Vitamin K, Konstitution 119
— Konstitution und physiologische Wirkung 124
— Nachweis und Bestimmung 125
— Synthese im Darm 119
Vitamin $K_1$ Darstellung 125
— Eigenschaften 121
— Synthese 121, 126
Vitamin $K_2$ 122
— -dihydrodiacetat 123
Vitamin $L_1$ 236
— $L_2$ 236
— P 236
— W 235
Vitamin-Bedarf, täglicher des Menschen 241
Vitamine Allgemeines 1
— Einteilung 5
Vitaminkonzentrate aus Lebertran 54
Vitaminmangelkrankheiten 2, 240
Vitazyme 239

Wasserlösliche Vitamine 128
Weizenkeime 113
— Extraktion 113
Weizenkeimlingsöl 98
Wellenlängen 58
Wellhornschnecke 9
Winterbutter, antirachitisches Prinzip 29

Xanthophyll 73
Xanthopterin 230, 232
Xerophthalmie 63
d-Xylo-ascorbinsäure 140
l-Xylo-ascorbinsäure 140
p-Xylohydrochinon 109
l-Xylosazon 154
l-Xylose 142
— Gewinnung 154
l-Xyloson 155

Zoosterine 10
d-Zuckersäure 143
— -γ-lacton 143
Zystomerine 11